

**UMSETZUNGEN VON REDUZIERENDEN ZUCKERN
MIT PRIMÄREN UND SEKUNDÄREN ALKYLAMINEN
ALS BEITRAG ZUR KENNTNIS DER
MAILLARD-REAKTION**

Helmut Pehr

1977



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555625_0054



UMSETZUNGEN VON REDUZIERENDEN ZUCKERN
MIT PRIMÄREN UND SEKUNDÄREN ALKYLAMINEN
ALS BEITRAG ZUR KENNTNIS DER MAILLARD-REAKTION

IN A U G U R A L - D I S S E R T A T I O N
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Chemie und Pharmazie
der Ludwig-Maximilians-Universität in München

vorgelegt von
Helmut Pehr
aus Deggendorf

München 1977

Berichterstatter: Prof. Dr. Th. Severin

Mitberichterstatter: Prof. Dr. F. Eiden

Tag der mündlichen Prüfung: 30.11.77



Die vorliegende Arbeit entstand auf Anregung und unter
Anleitung von

Herrn Professor Dr. Theodor Severin
am Institut für Pharmazie und Lebensmittelchemie der Ludwig-
Maximilians-Universität München. Für seine großzügige Unter-
stützung und stets wohlwollende Hilfe möchte ich Herrn Prof.
Severin meinen herzlichen Dank aussprechen.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft (DFG) bin ich für ihre
Zuwendungen zu Dank verpflichtet.

Frau M. Pelka möchte ich für ihre Hilfe beim analytischen Arbeiten, Frau I. Stekker für die Anfertigung der NMR-Spektren und der Elementaranalysen sowie Herrn Dr. H. Lerche für die Aufnahme der Massenspektren danken.

Meinen Eltern
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

Seite

Theoretischer Teil

1. Einleitung	1
2. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Diäthyl- ammoniumtartrat	2
2.1. Isolierung von Amino-Hexose-Reduktone	4
2.2. Bedeutung der Reduktone	7
2.3. Analytischer Nachweis der Amino-Hexose- Reduktone	9
2.3.1. Nachweis mit o-Phenylendiammin	10
2.3.2. Methanolyse	13
2.4. Hexose-Reduktone mit primären Aminen	24
2.5. Methanolyse von Glucose/Methylammonium- tartrat Bräunungsgemischen	28
2.6. Methanolyse von Bier bzw Schokolade	34
3. 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (<u>7</u>)	37
3.1. Strukturaufklärung	37
3.2. Synthesen	40
3.3. Chemische Umsetzungen	42
3.4. Nachweis in Bräunungsgemischen	44
3.5. Bildungsmechanismus	46
4. Umsetzungen von reduzierenden Zuckern mit primären Ammoniumsalzen	49
4.1. Bräunungsreaktionen von Glykolaldehyd mit. Methylammoniumtartrat	50

	Seite
4.2. Bräunungsreaktionen von Glycerinaldehyd mit Methylammoniumtartrat	67
4.3. Bräunungsreaktionen von Erythrose mit Methylammoniumtartrat	81
4.4. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Methylammoniumtartrat	86
4.4.1. Isolierung extrahierbarer Substanzen	86
4.4.2. Methylierung der Reaktionsprodukte	98
4.4.3. LiAlH_4 -Reduktion schwerflüchtiger Anteile	107
5. Zurückdrängung der Bräunung bei der Glucose/Methylammoniumtartrat Umsetzung	114
5.1. Fixierung des Aminosuckers auf indifferenten Trägern bzw Einschluß in $\text{Al}(\text{OH})_3$ -Gel	114
5.2. Abfangen reaktiver Zwischenstufen mit Benzaldehyd	116
5.3. Abfangen reaktiver Zwischenstufen durch Extraktion während der Umsetzung	117
6. Zusammenfassung	121
7. Literaturverzeichnis	123

	Seite
<u>Experimenteller Teil</u>	
1. Allgemeine Methoden	127
2. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Diäthyl- ammoniumtartrat	
2.1. Isolierung von 1,3-Dihydroxy-1-methyl- 4-(N-diäthylamino)-cyclopent-3-en-2-on (<u>6</u>)	127
2.2. Isolierung von 3-Hydroxy-1-methyl-4-(N-di- äthylamino)-cyclopent-3-en-2-on (<u>8</u>)	128
2.3. Analytischer Nachweis der Amino-Hexose- Reduktone	
2.3.1. 1H-2,3-Dihydro-2,2,4-trimethyl- 1,5-benzodiazepin (<u>12</u>)	129
2.3.2. Methanolyse von <u>6</u> : Isolierung der Verbindungen <u>17</u> - <u>22</u>	130
2.4. Hexose-Reduktone mit primären Aminen	133
2.5. Methanolyse von Glucose/Methylammonium- tartrat Bräunungsgemischen	135
2.6. Methanolyse von Bier bzw Schokolade	136
3. 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (<u>7</u>)	
3.2. Synthese	138
3.3. Chemische Umsetzungen	140
3.4. Nachweis in Bräunungsgemischen	141
4. Umsetzungen von reduzierenden Zuckern mit Methylammoniumtartrat	
4.1. Bräunungsreaktionen von Glykolaldehyd mit Methylammoniumtartrat	143

	Seite
4.2. Bräunungsreaktionen von Glycerinaldehyd mit Methylammoniumtartrat	144
4.3. Bräunungsreaktionen von Erythrose mit Methylammoniumtartrat	146
4.4. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Methylammoniumtartrat	
4.4.1. Untersuchung des Methylenchlorid- Extrakts	147
4.4.2. Methylierung des Methylenchlorid- Extrakts	149
4.4.3. LiAlH_4 -Reduktion schwerflüchtiger Anteile	150
5. Zurückdrängen der Bräunung bei der Glucose/ Methylammoniumtartrat Umsetzung	
5.2. Abfangen reaktiver Zwischenstufen mit Benzaldehyd	151
5.3. Abfangen reaktiver Zwischenstufen durch Extraktion während der Umsetzung	152

Theoretischer Teil

1. Einleitung

Die als nichtenzymatische Bräunungsreaktion (Maillard-Reaktion) bekannte thermische Umsetzung von reduzierenden Zuckern mit Aminosäuren oder Proteinen führt zu niedermolekularen, oft geruchsintensiven Verbindungen und zu gelbbraunen bis schwarzen Produkten, den Melanoidinen¹⁾.

Da in vielen Nahrungsmitteln Proteine und reduzierende Zucker nebeneinander vorliegen, hat die Maillard-Reaktion große Bedeutung bei vielen lebensmitteltechnologischen Vorgängen; oft ist sie erwünscht bzw. notwendig (Aromabildung), andererseits hat sie unerwünschte Beeinträchtigungen der Farbe, des Geschmacks, des Geruchs und der ernährungsphysiologischen Wertigkeit der Nahrungsmittel zur Folge²⁻³⁾.

In den vergangenen etwa 20 Jahren sind über derartige Bräunungsreaktionen von verschiedenen Arbeitskreisen zahlreiche Veröffentlichungen erschienen, die in der Mehrzahl Umsetzungen nicht im Lebensmittel selbst, sondern in Modellsystemen, behandeln.

Eingehend untersucht sind Umsetzungen verschiedener Zucker mit Aminosäuren bzw. primären Aminen. Die Bräunungsreaktionen in diesen Modellsystemen sollten ähnlich verlaufen wie in Lebensmitteln. Allerdings sind die mit primären Aminen gebildeten Reaktionsprodukte einfacher zu isolieren.

Zur Erweiterung unserer Kenntnisse über die Maillard-Reaktion sollten Untersuchungen über thermische Umsetzungen im Modell-

system Zucker - sekundäres Amin beitragen. Strukturbeziehungen zu dieser Aminkomponente weisen die Aminosäuren Prolin und Hydroxyprolin auf, die beim Erhitzen mit Glucose, Glycerinaldehyd oder Dihydroxyaceton Substanzen mit Brotaroma ergeben⁴⁻⁶).

Bei thermischen Umsetzungen von Zuckern mit primären Aminen entstehen u.a. Stickstoff-Heterocyclen (Pyrrole, Pyridone)⁷⁻¹¹). Derartige Verbindungen können natürlich aus Zuckern und sekundären Aminen nicht entstehen, so daß andere Verbindungsklassen verstärkt in den Vordergrund treten sollten.

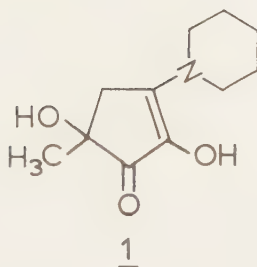
Bräunungsansätze mit primären Aminen liefern Produkte, die -NHR-Gruppen enthalten und wegen ihrer größeren Polarität schwieriger abzutrennen sind als die entsprechenden Verbindungen mit -NR₂-Gruppen, die mit sekundären Aminen entstehen.

2. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Diäthylammoniumtartrat

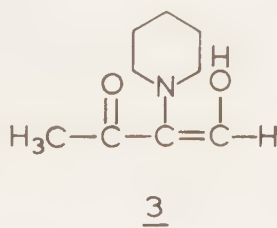
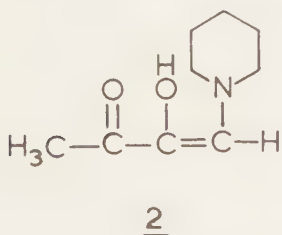
2.1.

Durch Erhitzen von Glucose mit Piperidiniumacetat erhielten J.E. Hodge und C.E. Rist¹²⁾ in einer Ausbeute von 15% eine stickstoffhaltige, kristalline Substanz mit reduzierenden Eigenschaften, die sie Amino-Hexose-Redukton nannten. Durch Abbaureaktionen konnten F. Weygand und Mitarbeiter¹³⁾ die Struktur mit 1,3-Dihydroxy-1-methyl-4-(N-piperidino)-cyclopent-3-en-2-on (1) angeben.

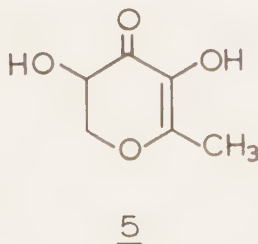
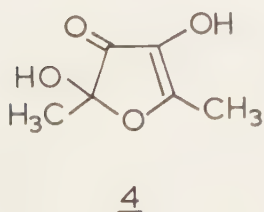
Auf Grund seiner Untersuchungen mit ¹⁴C-markierter Glucose postulierte H. Simon¹⁴⁾ einen Bildungsmechanismus. Diese neue Verbindungsklasse entsteht bei der Reaktion von Hexosen mit sterisch nichtbehinderten, sekundären Aminen.



Hodge und Mitarbeiter⁶⁾ haben die thermische Zersetzung von 1-Desoxy-1-piperidino-fructose eingehend untersucht. Sie erhitzen diesen Aminozucker auf 105°C und analysierten die im Vakuum übergehenden Verbindungen. Sie konnten neben 1 die Amino-reduktone 2 und 3 nachweisen.

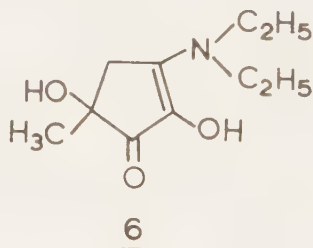


Kürzlich erschien eine Veröffentlichung über die Thermolyse von 1-Desoxy-1-prolino-fructose¹⁵⁾. Als flüchtige Produkte wurden 2,5-Dimethyl-2,4-dihydroxy-3-(2H)-furanon (4) und 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (5) gefunden.



Dieselben Heterocyclen bilden sich bei der Umsetzung von Zuckern mit primären Aminen.

Ich habe Glucose mit Diäthylammoniumtartrat unter verschiedenen Bedingungen umgesetzt und die Reaktionsgemische eingehend analysiert. Zunächst wurden die Komponenten in wässriger Lösung zwei Stunden auf Siedetemperatur erhitzt. Der mit Methylenchlorid extrahierbare Anteil der schwarzbraunen Lösung enthielt als Hauptkomponente 6, eine Verbindung, die sich nur hinsichtlich der Aminkomponente von dem Redukton unterscheidet, das von Hodge und Mitarbeiter¹²⁾ isoliert wurde.

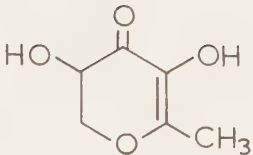
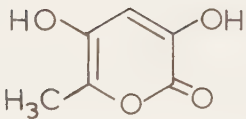
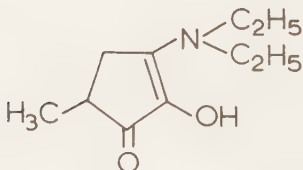
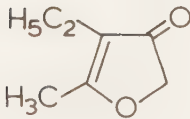
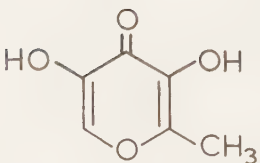


Nach Abtrennung von 6 verbleibt ein gelbes Öl, das ich im Hochvakuum destillierte und dann gaschromatographisch analysierte (Abb. 1). Die gaschromatographisch aufgetrennten Hauptprodukte sammelte ich in luftgekühlten Glaskapillaren und nahm ihre NMR-, IR- und Massenspektren auf. Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 dargestellt.

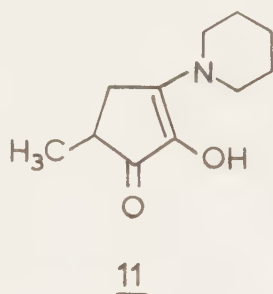
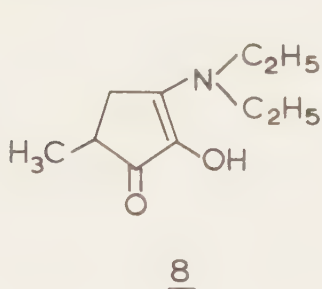


Abb. 1: Gaschromatogramm des Methylenchlorid-Extrakts des
Bräunungsgemisches Glucose/Diäthylammoniumtartrat

Tabelle 1

5		MS: 144(20, M^+), 101(20), 73(8), 72(15), 55(25), 43(100)
7		Spektraldaten im experimentellen Teil
8		Spektraldaten im experimentellen Teil
9		MS: 126(55, M^+), 111(10), 83(62), 68(41), 55(25), 43(100) IR: 1700, 1590, 1410, 1130 cm^{-1} NMR(CDCl_3): τ 8,82(t, $J=5\text{Hz}$, 3H), τ 7,95(s, 3H), τ 7,30(q, $J=5\text{Hz}$, 2H), τ 4,45(s, 2H)
10		MS: 142(100, M^+), 113(48), 96(19), 85(54), 71(47), 68(82), 43(76) IR: 3100, 1650, 1600 cm^{-1} NMR(CD_3OD): τ 7,63(s, 3H), τ 2,05(s, 1H)

Besondere Beachtung verdient das bisher in der Literatur nicht erwähnte 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (7), auf das später näher eingegangen wird, sowie das 3-Hydroxy-1-methyl-4-(N-diäthylamino)-cyclopent-3-en-2-on (8), eine Verbindung, die eine OH-Gruppe weniger enthält als das bereits genannte Redukton 6.



F. Weygand und Mitarbeiter¹³⁾ synthetisierten das Piperidino-Redukton 11 durch Dehydratisierung mit anschließender katalytischer Hydrierung aus 1. Durch Umsetzung von 4-Chlor-1-methylcyclopent-1-en-2-ol-3-on mit Piperidin erhielten sie dasselbe Produkt.

Die von mir isolierte Verbindung 8 ist ebenfalls unter die Amino-Reduktone einzureihen. Ihre Isolierung aus Zucker-Amin-Reaktionsgemischen ist in der Literatur bisher nicht beschrieben.

2.2.

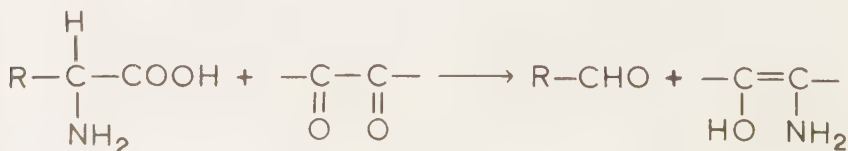
Unter dem Begriff "Reduktone"¹⁶⁾ versteht man eine Stoffklasse organischer Verbindungen, deren wesentliche gemeinsame Eigenschaft ein ausgeprägtes Reduktionsvermögen ist, das sich formal auf eine Dehydrierung einer Endiol- zu einer Dicarbonylgruppe zurückführen läßt.

Zu den Reduktonen zählt man auch Verbindungen, bei denen eine oder beide Hydroxylgruppen eines Endiols durch $-NH_2$, $-NHR$ bzw. $-NR_2$ ersetzt sind. Stabilisiert werden die Endiol- bzw. Amino-enolgruppen durch benachbarte Carbonylfunktionen.

Die bei der Gewinnung, Verarbeitung und Lagerung von Lebensmitteln ablaufenden nichtenzymatischen Bräunungen führen auch zur Bildung von Reduktonen, deren Anwesenheit oft erwünscht ist. Auf Grund ihrer antioxidativen Wirkung stabilisieren sie Lebensmittel gegen Sauerstoffeinwirkung. In Kakao bzw. Schokolade z.B. schützen sie die Aromakomponenten und das Fett vor oxidativen Einflüssen. Die beim Darrprozeß und beim Würzekochen entstehenden Reduktone tragen zur Geschmacksstabilität des Bieres bei.

Reduktone sind auch als wesentliche Vorstufen der nichtenzymatischen Bräunung anzusehen. Ihre Oxidationsprodukte, die reaktiven α -Dicarbonylverbindungen, bilden alleine oder mit Aminosäuren braune Pigmente¹²⁾. Dehydroascorbinsäure reagiert mit Aminosäuren sehr schnell unter Bildung von dunkel gefärbten Produkten¹⁷⁾. Ascorbinsäure wie auch Reduktinsäure können eine Bräunungsreaktion bewirken, die der bei erhitzten und gelagerten Lebensmittel ähnlich ist¹⁸⁾.

Die aus Reduktonen durch Oxidation entstehenden α -Dicarbonylverbindungen können auch den Strecker-Abbau von Aminosäuren¹⁹⁾ bewirken:



Die durch diese Seitenreaktion der nichtenzymatischen Bräunung entstehenden Aldehyde können zu Melanoidinen weiterreagieren²⁰⁾.

2.3.

Wie in den vorhergehenden Kapiteln dargelegt wurde, ist die Bildung von Melanoidinen eng verknüpft mit der von Reduktonen. Durch die analytische Erfassung der während der Lagerung gebildeten Reduktone kann man Rückschlüsse auf den Qualitätszustand der Lebensmittel ziehen. Als Vorstufen der Maillard-Reaktion gelten sie als Indikatoren, um unerwünschte Veränderungen der Lebensmittel frühzeitig festzustellen. In der Literatur^{21,22)} ist vielfach das Phänomen eines durch Reduktonbildung hervorgerufenen scheinbaren Anstiegs des Vitamin C - Gehalts beschrieben worden, der sich pharmakologisch als antiskorbutisch unwirksam erwiesen hat. Die bei der Herstellung und Lagerung von Trockenkartoffelpulver, Orangenpulver etc. durch Zucker-Aminosäure-Wechselwirkung entstandenen Reduktone interferieren mit Vitamin C bei den üblichen titrimetrischen Redoxverfahren, wie Oxidation mit Jod, Bromat, 2,6-Dichlorphenolindophenol^{23,24)}. Zudem stellen einige Zwischenstufen der Ascorbinsäure-Zersetzung Reduktone dar²⁵⁾, die durch die obigen unspezifischen oxidimetrischen Methoden miterfaßt werden. Selbst die Ascorbinsäure-Bestimmung mittels Polarographie und die spektralphotometrische Erfassung der Kondensationsprodukte von Dehydroascorbinsäure mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin bzw. o-Phenylendiammin erlauben es nicht, Ascorbinsäure und Reduktone getrennt zu erfassen²⁶⁾. Alle beschriebenen Verfahren sprechen lediglich unspezifisch

auf eine Endiolgruppierung an.

Vielversprechender erscheint ein Verfahren, Ascorbinsäure und die reduktionartigen Begleitsubstanzen nach Oxidation und Reaktion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin als Hydrazone dünnschichtchromatographisch aufzutrennen und nach Elution von Adsorbens photometrisch zu bestimmen²⁷⁻²⁹).

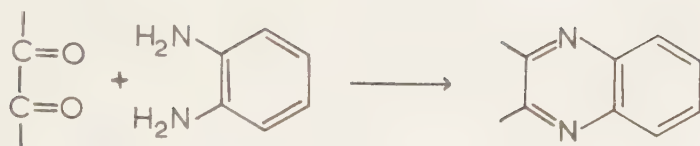
Die Derivatisierung von Hydroxyl- und Aminogruppen durch Methylierung, Acetylierung oder Silylierung führt im allgemeinen zu leichter flüchtigen Verbindungen, die gaschromatographisch bestimmt werden können. Weygand und Mitarbeiter¹³) stellten den Dimethyläther des Amino-Hexose-Reduktions 1 dar. Analoge Amino-Hexose-Reduktone könnten auch bei der Umsetzung von Zuckern mit primären Aminen, Aminosäuren oder Proteinen - und damit in Lebensmitteln entstehen. Diese Aminkomponenten verleihen den Reduktionen eine große Polarität und damit eine geringe Flüchtigkeit.

Am Beispiel des bei der Umsetzung von Glucose mit Diäthylammoniumtartrat in guter Ausbeute erhältlichen Amino-Hexose-Reduktions 6 als Modellsubstanz versuchte ich, ein analytisches Verfahren auszuarbeiten, mit dem Reduktone nach Derivatisierung getrennt und nachgewiesen werden können. Eine Umwandlung in stabile Derivate ist notwendig oder auch zweckmäßig, da sich Reduktone z.T. bereits auf Kieselgel zersetzen.

2.3.1.

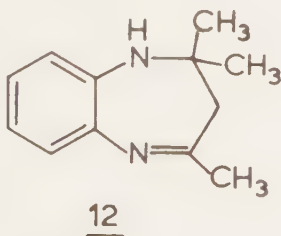
Es ist bekannt, daß α -Diketone mit o-Phenylendiammin in hoher Ausbeute zu Chinoxalinen reagieren³⁰). Um diese Derivatisierungsmethode auf das Amino-Reduktion 6 anzuwenden, muß es vorher

oxidiert werden.



Das Chinoxalinderivat sollte mittels Hochdruckflüssigkeitschromatographie nachweisbar sein; ebenso könnte man es dünn-schichtchromatographisch abtrennen und spektralphotometrisch bestimmen.

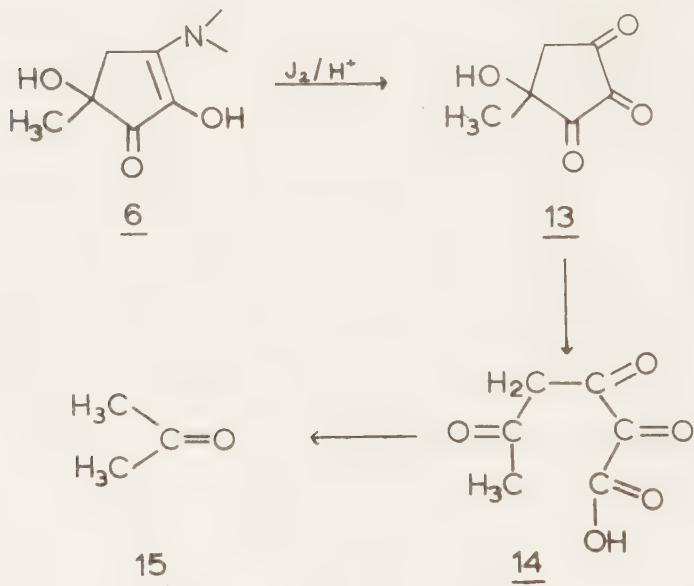
Ich versetzte 6 in saurer Lösung mit Jod bis zum Auftreten einer Braunfärbung. Nach Umsetzung mit äquimolaren Mengen o-Phenylendiammin isolierte ich eine hellgelbe kristalline Verbindung. Aus den Spektren folgt, daß es sich um 1H-2,3-Dihydro-2,2,4-trimethyl-1,5-benzodiazepin (12) handelt.



Aus der Elementaranalyse und dem Massenspektrum (M^+ 188) ergibt sich die Summenformel $C_{12}H_{16}N_2$. Das NMR-Spektrum vermittelt wichtige Strukturmerkmale:

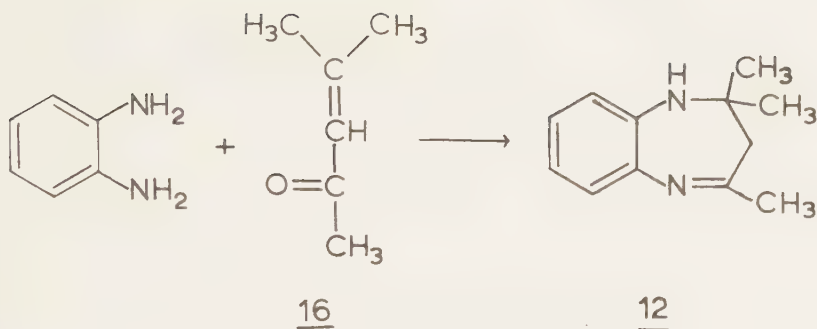
Das Singulett bei τ 8,60 zeigt die zwei magnetisch äquivalenten Methylgruppen an einem gesättigten C-Atom. Die Methylengruppe und die Methylgruppe am ungesättigten C-Atom erscheinen jeweils

als Singulett bei $\sim 7,75$ bzw $7,62$. Die Ringprotonen ergeben ein Multiplett bei $\sim 3,25$ - $\sim 2,86$. Diesem unerwarteten Produkt könnte folgender Bildungsmechanismus zugrunde liegen (Schema 1):



Schema 1

Aus der Dehydroform 13 des Amino-Reduktons 6 entsteht offenbar durch Oxidation die acyclische 1,3-Diketoverbindung 14. Unter Einfluß von o-Phenylendiammin als Base wird Aceton (15) abgespalten, das mit sich selbst zu Mesityloxid (16) kondensiert. Der weitere Reaktionsweg ist im Schema 2 wiedergegeben.



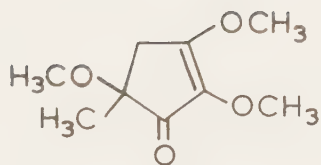
Die Struktur von 12 und der vorgeschlagene Bildungsweg wird gestützt durch den Befund, daß beim Erhitzen von o-Phenylendiammin und Aceton unter Säurekatalyse ebenfalls Verbindung 12 erhalten wird.

2.3.2.

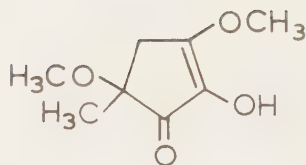
In weiteren Untersuchungen gelang es, eine Nachweismethode zu finden, mit der das Reduktionsystem unabhängig von der Art der Aminokomponente erfaßt werden kann.

Ich versetzte das Amino-Hexose-Redukton 6 mit p-Toluolsulfonsäure und überschüssigem wasserfreiem Methanol und erhitze unter Rückfluß. Durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel trennte ich das gelbe Öl im Fließmittelgemisch Benzol/Äthylacetat (1+1) auf. Die Platten zeigten unter UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$) sechs fluoreszenzlöschende Zonen. Von den daraus isolierten Substanzen wurden MS-, IR- und NMR-Spektren aufgenommen.

Die quantitativ dominierenden Komponenten dieser Umsetzung sind in den Zonen mit den rf-Werten um 0,65 und 0,50 enthalten und zwar der Reduktontrimethyläther 17 und der Reduktondimethyläther 18.

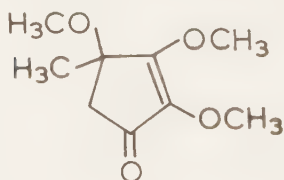


17

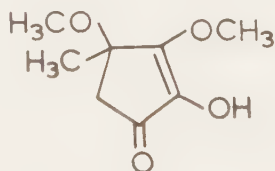


18

Aus den fluoreszenzlöschenden Zonen um rf 0,60 und rf 0,40 isolierte ich nach erneuten schichtchromatographischen Reinigungsschritten die in geringerer Menge anfallenden Verbindungen 19 und 20, die jeweiligen Isomeren von 17 und 18.

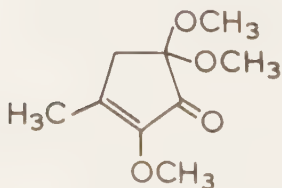


19

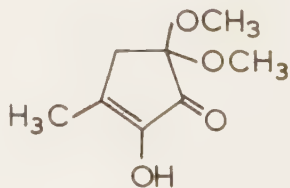


20

Die fluoreszenzlöschenden Zonen um rf 0,85 und rf 0,75 liefern die Verbindungen 21 und 22, die in geringer Menge entstehen.



21



22

Bei kurzer Reaktionszeit (30 min.) entsteht als Hauptprodukt der Dimethyläther 18; nach zehnstündigem Erhitzen dominiert der Trimethyläther 17.

18 ließ sich durch Sublimation im Hochvakuum in Form farbloser Kristalle gewinnen. Die Elementaranalyse ergab die Zusammensetzung $C_8H_{12}O_4$.

Im IR-Spektrum zeigt sich die Substitution der N-Diäthylamino-Gruppe durch eine Methoxygruppe in der Verschiebung der Carbonylbande von 1670 cm^{-1} nach 1715 cm^{-1} .

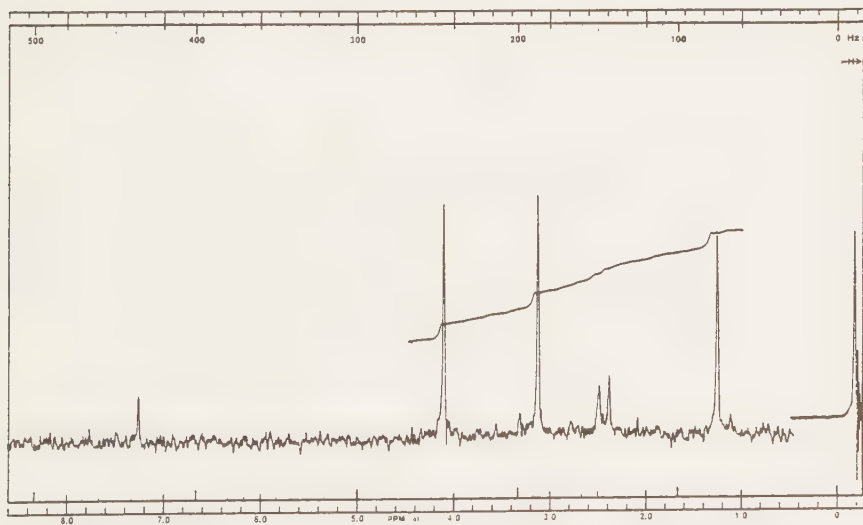
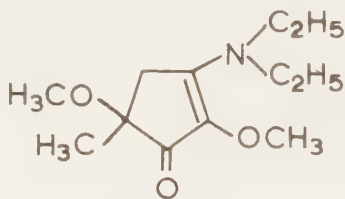


Abb. 2: NMR-Spektrum von 18 in $CDCl_3$ ⁷⁸⁾

Die Interpretation des NMR-Spektrums (Abb. 2) bestätigt die angenommene Struktur: Die Lage des Singulett der C-Methylgruppe bei τ 8,59 ist fast identisch mit der im Amino-Hexose-Redukton 6. Die beiden nicht äquivalenten Protonen der Methylengruppe sind

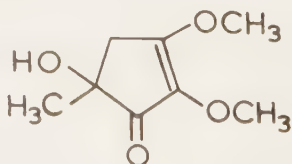
geminal gekoppelt und ergeben zwei Dubletts mit nahezu gleicher chemischer Verschiebung (τ 7,47). Das Singulett der Methoxygruppe am quartären C-Atom bei τ 6,80 stimmt in seiner chemischen Verschiebung mit dem Signal der entsprechenden Protonen im Dimethyläther 22 von 6 überein.



23

Das Singulett der Methoxygruppe im Verband des vinylogenen Carbonsäureesters liegt bei τ 5,83; hier zeigt sich die Schwächung der magnetischen Abschirmung durch die elektronenentziehende Wirkung der Carbonylgruppe über die C-C-Doppelbindung.

Im Massenspektrum des Reduktondimethyläthers 18 findet man eine intensive Abspaltung von MZ 31 aus dem Molekülion. Eine derartige Fragmentierung ist typisch für eine Methoxygruppe an einem gesättigten C-Atom. Diese Tatsache und eine positive Eisen(III)-chlorid-Reaktion sprechen für die Struktur 18 und schließen die isomere Verbindung 24 aus.



24

Der Reduktontrimethyläther 17, eine flüssige Substanz, enthält - seinen Spektren nach - dieselben Strukturelemente wie 18, jedoch zeigt sein NMR-Spektrum (Abb. 3) ein weiteres Singulett bei τ 6,08; dieses ist der zusätzlichen Methoxygruppe zuzuordnen.

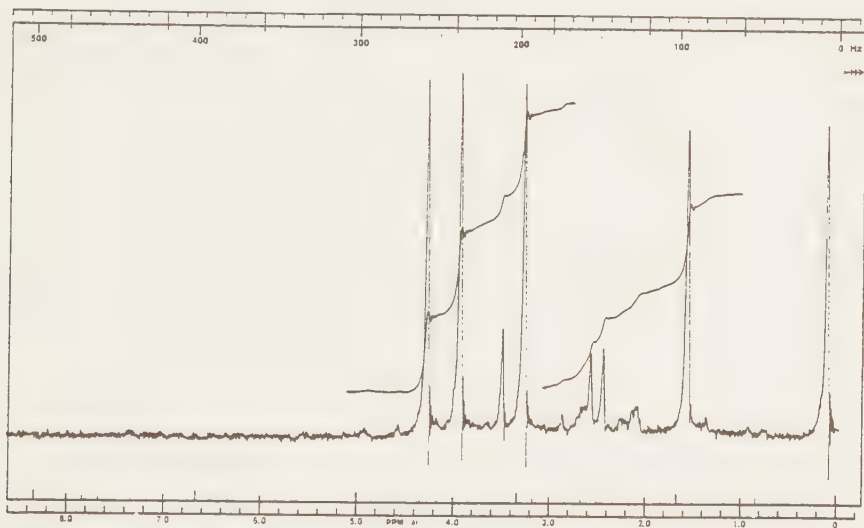


Abb. 3: NMR-Spektrum von 17 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Die in geringer Menge isolierten Verbindungen 19 und 20 weisen ähnliche IR-Spektren auf wie die jeweiligen Isomeren 17 und 18. Die entsprechenden Isomerenpaare stimmen in ihren Molekulargewichten überein.

Strukturhinweise liefern die Massenspektren. Die von einem metastabilen Übergang begleitete Acetyl-Abspaltung aus dem Molekülion zeigt, daß sich die Methylengruppe in α -Stellung zur Carbonylfunktion befindet.

Die NMR-Spektren weisen nur geringfügige Veränderungen der chemischen Verschiebungen vergleichbarer Signale auf.

Die Verbindungen 21 und 22 sind den Elementaranalysen und den Massenspektren nach ebenfalls Isomere von 17 und 18. Die intensive Schwingungsbande bei 1725 cm^{-1} im IR-Spektrum von 21 ist der Carbonylgruppe eines α, β -ungesättigten Fünfring-Ketons zuzuordnen³¹⁾. Die entsprechende Bande von 22 ist durch die Wasserstoffbrücken-Bindung der freien OH-Gruppe mit der Carbonylfunktion um 25 cm^{-1} zu tieferer Frequenz verschoben; zusätzlich erscheint eine breite O-H-Absorptionsbande bei 3380 cm^{-1} . Charakteristisch bei beiden Verbindungen ist die ausgeprägte Bande bei 1100 cm^{-1} , die der C-O-Valenzschwingung der Acetalgruppe entspricht³²⁾.

Die NMR-Spektren (Abb. 4 und 5) geben wertvolle Strukturhinweise: Die sechs äquivalenten Protonen der beiden Methoxygruppen der Acetalgruppe geben ein Singulett bei $\tau 6,58$. Die Protonen der Methylen- und der C-Methylgruppe unterliegen einer "long-range"-Spin-Spin-Kopplung; die Signalgruppe aus 4 Linien mit der Kopplungskonstante von 1 Hz bei $\tau 7,42$ ist der CH_2 -Gruppe, das Triplett bei $\tau 8,00$ der Methylgruppe zuzuordnen. Das Singulett dreier Protonen bei $\tau 6,08$ wird von der zusätzlichen Methoxygruppe von 21 verursacht.

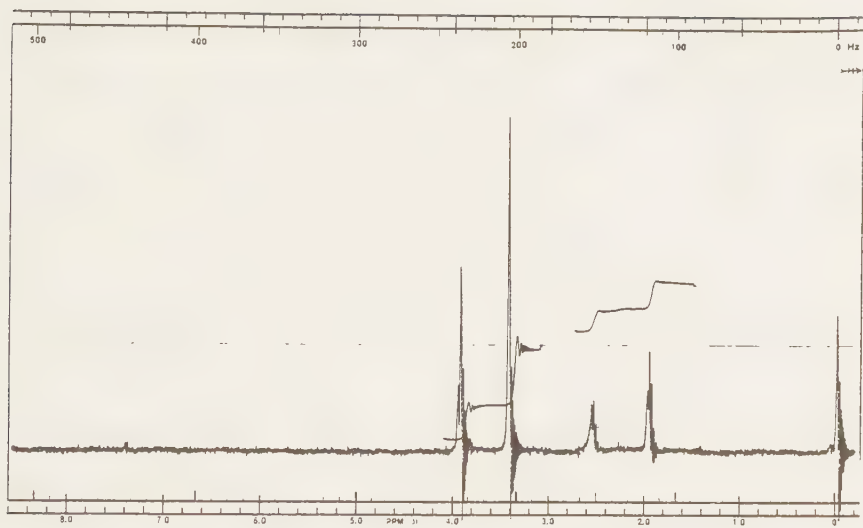


Abb.4: NMR-Spektrum von 21 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

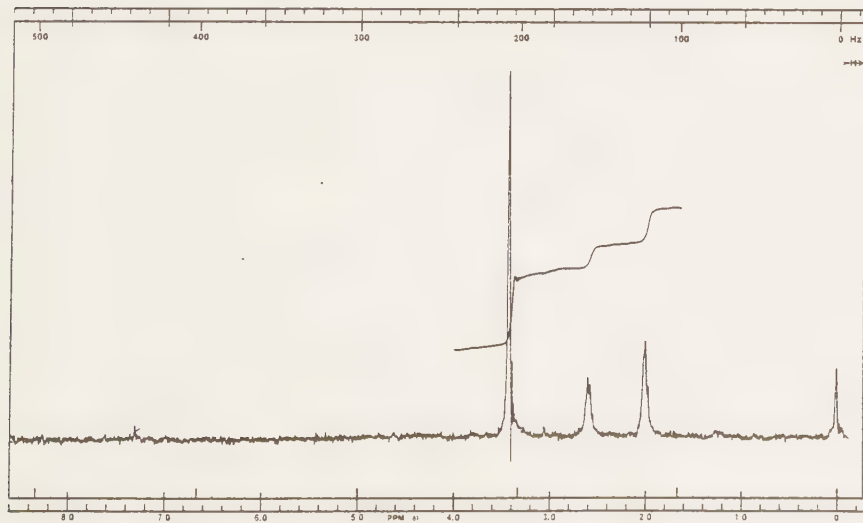
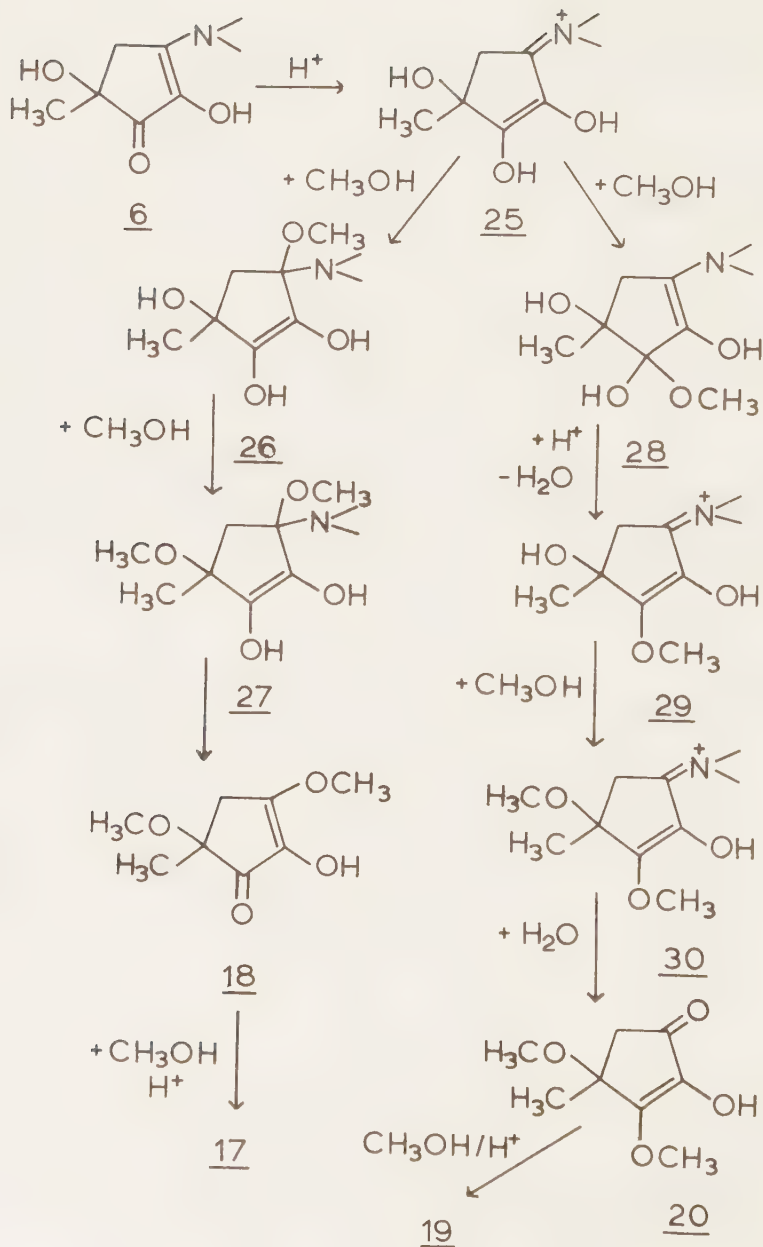


Abb.5: NMR-Spektrum von 22 in CDCl_3 ⁷⁸⁾



Scheme 3

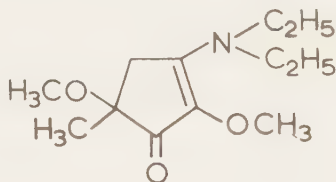
Die Bildung der Verbindungen 17 - 20 läßt sich durch einfache Reaktionsabläufe erklären. Die Substitution der Amingruppe durch eine Methoxygruppe entspricht formal einer säurekatalysierten Umwandlung eines vinylogenen Säureamids in einen vinylogenen Carbonsäureester.

Der Mechanismus dieser als Methanolyse zu bezeichnenden Umsetzung ist im Formelschema 3 wiedergegeben.

Nach Protonierung des Sauerstoffatoms der Carbonylgruppe bestehen zwei Möglichkeiten für den nucleophilen Angriff von Methanol. Die Reaktionsschritte, die die Bildung der in geringer Menge anfallenden Verbindungen 19 und 20 beschreiben, sind wenig begünstigt; die Abspaltung der Amingruppe (30 $\rightarrow$ 20) erfordert die Anwesenheit von Wasser, das im Reaktionsgemisch aber nur in geringer Konzentration - durch Abspaltung bei der Ätherbildung und durch Reaktionsschritt 28 $\rightarrow$ 29 - entsteht. Die Isolierung der isomeren Reduktandimethyläther 18 und 20 läßt sich mit der leichten Substitution der allylständigen Hydroxylgruppen durch die Methoxygruppen bei den Zwischenstufen 26 bzw. 29 erklären. Die enolische OH-Funktion kann anschließend durch eine Methoxygruppe ersetzt werden.

Dem Bildungsweg nach ist schlüssig, daß sowohl in 17 und 18 als auch in 6 die Carbonylfunktion benachbart zum quartären C-Atom sitzt, d.h. sie weisen dasselbe Grundgerüst auf. Außerdem zeigen die analogen Verbindungen 6, 17 und 18 in ihren Massenspektren keine Acetylbspaltung, die für eine CH_2 -Gruppe in Nachbarschaft zur CO-Gruppe spricht. Diese Strukturzuordnung konnte durch folgenden Versuch erhärtet werden: Durch Umsetzung von 17 mit

Diäthylamin erhielt ich die Verbindung 23, die den Spektren nach identisch ist mit der Verbindung, die durch zweifache Methylierung von 6 dargestellt wurde.



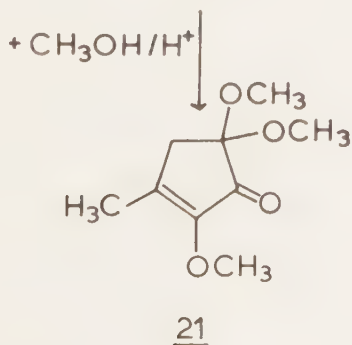
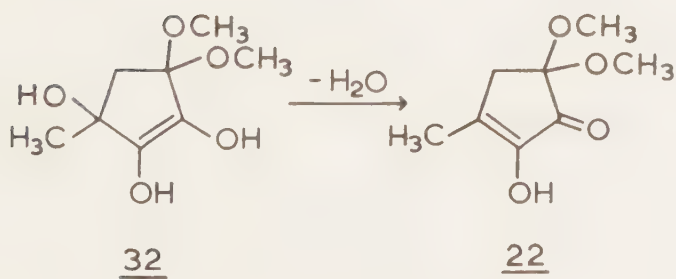
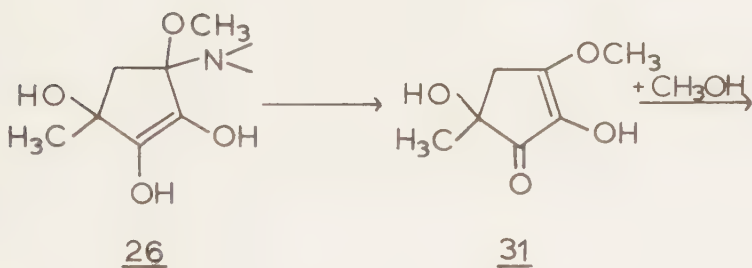
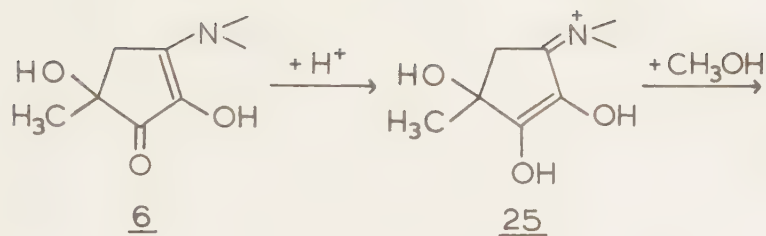
23

Die Methanolyseversuche tragen somit zur Strukturaufklärung der Amino-Hexose-Reduktone bei und bestätigen die Untersuchungen von F. Weygand¹²⁾ und H. Simon¹³⁾.

Die Bildung der Nebenprodukte 21 und 22 wird durch folgenden Mechanismus erklärt (Schema 4).

Die ersten Reaktionsschritte verlaufen ähnlich wie beim Bildungsweg der Hauptprodukte 17 und 18. Jedoch wird im Zwischenprodukt 32 die allylständige Hydroxylgruppe eliminiert; dieser Reaktionstyp ist in der Zuckerchemie häufig anzutreffen. Die Acetalgruppe entsteht durch erneute Addition von Methanol an den vinylogenen Carbonsäureester 31.

Die Hauptprodukte der Methanolyse des Amino-Hexose-Reduktions 6, der Reduktontrimethyläther 17 und der Reduktondimethyläther 18, sind wie auch die Nebenprodukte 19 - 22 flüchtig genug, um gaschromatographisch erfaßt werden zu können.



Schema 4

Die Methanolyse erlaubt es, Reduktone unabhängig von der Art der Aminkomponente zu erfassen. Die schwerflüchtigen Reduktone mit primären Aminen, Aminosäuren oder Peptiden als Aminkomponenten werden unter Austausch des Aminanteils durch die Methoxygruppe in Derivate übergeführt, die leichter isolierbar und mit geringerem Aufwand trennbar und nachweisbar sind.

Mit dieser analytischen Methode könnten z.B. Ascorbinsäure und die bei ihrer Bestimmung interferierenden Reduktone getrennt erfaßt werden.

Neben dem, speziell das Reduktionsystem betreffenden Reaktionsschritt können reaktive Hydroxylgruppen in Methyläther übergeführt werden.

2.4.

In der Literatur sind bisher keine Amino-Hexose-Reduktone aus Umsetzungen von Zuckern mit primären Aminen beschrieben. Es lag also nahe, die Methanolyse auch auf Bräunungsansätze von Glucose und primären Aminen anzuwenden.

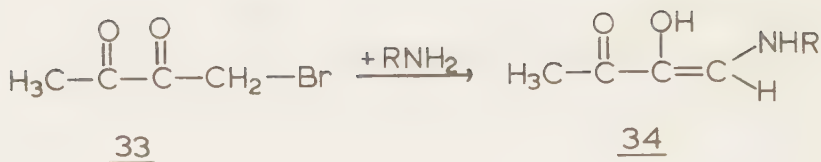
Die mit Methylenchlorid extrahierbaren Anteile eines Bräunungsansatzes aus Glucose und Methylammoniumtartrat wurden mit Methanol/p-Toluolsulfonsäure erhitzt. Das Reaktionsgemisch trennte ich durch präparative Schichtchromatographie an Kieselgel im Fließmittelgemisch Benzol/Äthylacetat (1+1) auf. Die fluoreszenzlöschenden Zonen in der Höhe der gleichzeitig chromatographierten Testsubstanzen 17 - 22 wurden abgetrennt und eluiert. Die aus den einzelnen Zonen erhaltenen Öle untersuchte ich anschließend durch gaschromatographischen Vergleich mit den Reinsubstanzen 17 - 22; die Retentionswerte der

Reduktonäther 17 - 22 waren von denen der Fraktionskomponenten des Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungsansatzes deutlich verschieden. Auch die Auswertung der Massenspektren, die bei der GC-MS-Analyse von jeder gaschromatographisch getrennten Substanz sofort gemessen wurden, zeigte, daß unter den von mir angewandten Reaktionsbedingungen keine Reduktonäther der Struktur 17 - 22 nachzuweisen sind.

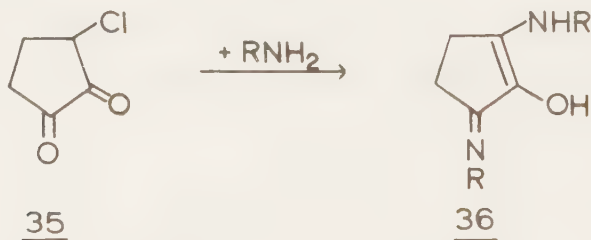
In Kontrollversuchen wurden wechselnde Mengen des Amino-Hexose-Reduktions 6 dem Methylenchlorid-Extrakt des Glucose-Methylammoniumtartrat-Reaktionsgemisches zugesetzt. Eine Menge von $10^{-2}\%$ (bezogen auf Glucose) ist mit dieser Methode ohne Schwierigkeiten nachweisbar.

Die Amino-Hexose-Reduktone aus der Umsetzung von Glucose mit primären Aminen könnten jedoch so hydrophil sein, daß sie mit Methylenchlorid aus Wasser nur schwer zu extrahieren sind. Deshalb untersuchte ich die nach der Methylenchlorid-Extraktion zurückbleibende wässrige Lösung nach dem oben beschriebenen Verfahren; hier war es notwendig, das Wasser durch Gefriertrocknung zu entfernen. Auch dieser Versuch bestätigt den Befund, daß Aminoreduktone des Typs 6 beim Erhitzen von Glucose mit primären Aminen in neutraler Lösung nicht gebildet werden. Jedenfalls konnte ich über die Reduktonmethylether Aminoreduktone dieser Struktur nicht nachweisen. Diese negativen Ergebnisse veranlaßten mich, Aminoreduktone mit freien NH-Gruppen darzustellen. Möglicherweise sind sie wichtige Bausteine der Melanoidine¹²⁾.

H. Simon und G. Heubach³³⁾ synthetisierten mehrere C4-Aminoreduktone durch Umsetzung von Bromdiacetyl (33) mit primären Aminen.



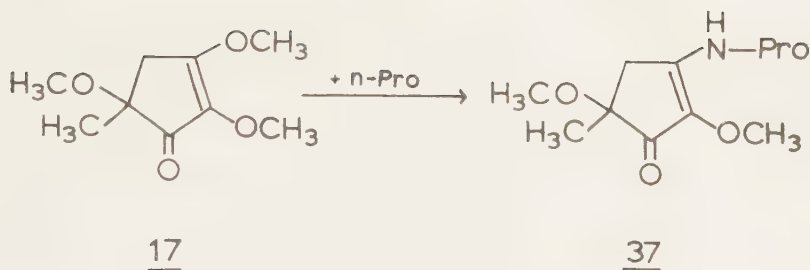
Bei Umsetzungen von 1-Chlorcyclopentan-2,3-dion (35) mit primären Aminen erhielten sie jeweils die Bis-amino-Produkte 36.



Ich versuchte im Amino-Hexose-Redukton 6 die Diäthylaminogruppe direkt gegen eine primäre Aminogruppe auszutauschen. Trotz vielfältiger Variation der Aminkomponenten und der Reaktionsbedingungen gelang diese Substitution nicht.

Die bei der Methanolyse von 6 entstehenden Reduktonäther 17 - 20 stellen reaktive Ausgangsverbindungen dar.

Die Umsetzung des Reduktontrimethyläther 17 mit n-Propylamin ergab in einer Ausbeute von 25% den entsprechenden Aminoreduktondimethyläther 37.



Aus Elementaranalyse und Massenspektrum ergibt sich die Summenformel $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{NO}_3$. Das IR-Spektrum zeigt eine NH-Schwingungsbande bei 3250 cm^{-1} , während sich die Umwandlung der vinylgen Estergruppierung in ein vinylloges Säureamid in der Verschiebung der Carbonylbande von 1720 cm^{-1} nach 1660 cm^{-1} äußert.

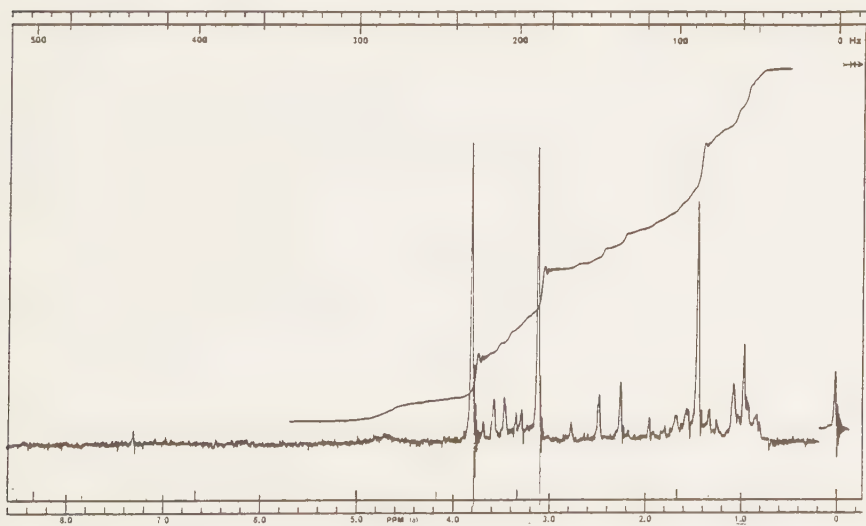


Abb.6: NMR-Spektrum von 37 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Die Struktur kann eindeutig durch das NMR-Spektrum (Abb.6) festgelegt werden. Es unterscheidet sich von dem der Ausgangssubstanz 17 lediglich durch das Fehlen des Signals der O-CH₃-Gruppe bei τ 5,79; dafür weist es das typische Aufspaltungsmuster einer n-Propyl-Gruppierung auf.

Auffällig ist die Eigenschaft dieses Aminoreduktions, sich bei mehrtägigem Stehen schwarzbraun zu verfärben. Die zunächst einheitliche Substanz geht in unlösliche Polymerprodukte über, die sich auf Kieselgel im Fließmittelgemisch CH₂Cl₂/CH₃CN nicht chromatographieren lassen.

Möglicherweise stellen solche Aminoreduktone Vorstufen für die Bildung der Melanoidine während der Maillard-Reaktion dar. Diese Hypothese wird bekräftigt durch die Tatsache, daß aus Bräunungsansätzen von Glucose mit primären Aminen über die Reduktionmethylether keine Aminoreduktone nachweisbar sind. In Widerspruch dazu steht die hohe Stabilität der Aminoreduktone, die sich aus Glucose und sekundären Aminen bilden. In welchem Umfang die Aminoreduktone an der Bildung der braunen Pigmente im Verlauf der Maillard-Reaktion beteiligt sind, muß noch eingehender untersucht werden.

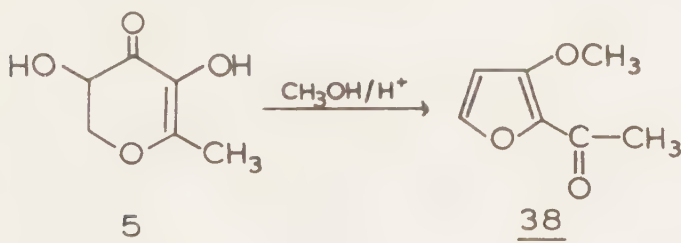
2.5.

Nebem dem analytischen Nachweis von Aminoreduktionen sollte die Methanolyse eine geeignete Methode sein, bisher unbekannte Maillard-Produkte zu isolieren. Der Methylenchlorid-Extrakt eines Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungsansatzes wurde mit Methanol/p-Toluolsulfonsäure erhitzt. Das erhaltene Öl trennte ich gaschromatographisch auf und sammelte die Hauptkomponenten

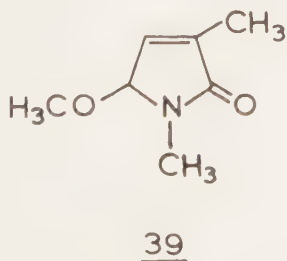
durch GC-Splitting.

Mengenmäßig dominierte eine kristalline Verbindung, deren Spektren mit denen von Isomaltolmethylläther (38) identisch sind.

38 entsteht durch Einwirkung von Methanol und Säure auf 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (5), einem bekannten Zuckelumwandlungsprodukt^{34,35}).



Weiter konnte ich aus dem Gemisch eine bisher unbekannte Substanz als farbloses Öl isolieren. Die vorliegenden Informationen aus den Spektren lassen auf 1,4-Dimethyl-2-methoxy- Δ^3 -pyrrolin-5-on (39) schließen.



Das Massenspektrum zeigt über das Molekülion (M^+141) das Molekulargewicht an. Eine intensive Schwingungsbande im IR-Spektrum bei 1700 cm^{-1} steht in Einklang mit den Daten, die in der Literatur³²⁾ für CO-Schwingungen in Fünfringlaktamen

angeführt sind.

Strukturhinweise ergeben sich im wesentlichen aus dem NMR-Spektrum (Abb.7).

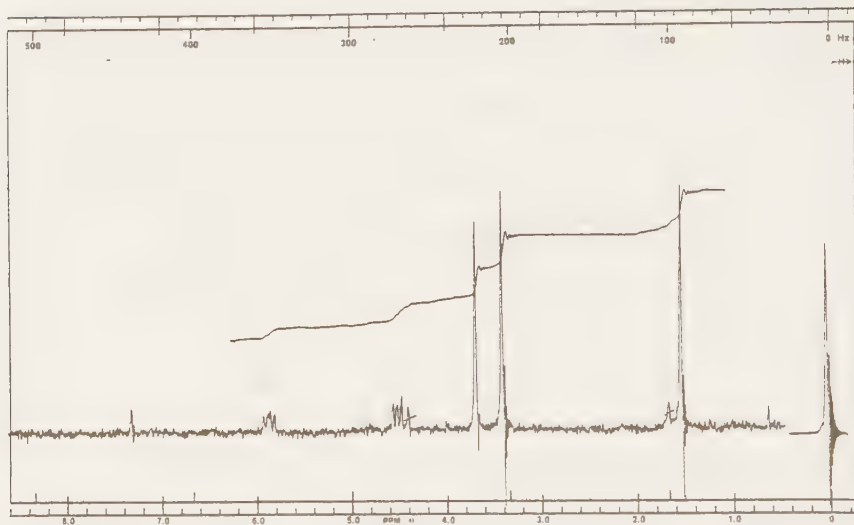
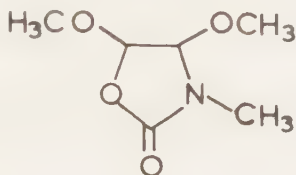


Abb.7: NMR-Spektrum von 39 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Drei Singulettts bei τ 6,32, τ 6,59, τ 8,47 zeigen drei Methylgruppen an. Sie sind der O-Methyl-, der N-Methyl- und der C-Methylgruppe zuzuordnen. Das Signal der letzteren ist eigentlich bei etwas tieferem Feld zu erwarten. Die Resonanzlage des Vinylprotons bei τ 4,08 ist verständlich, da es am β -C-Atom einer α, β -ungesättigten Carbonylgruppe sitzt. Das Dublett bei τ 5,46 ist einem Proton an einem quartären C-Atom mit zwei die magnetische Abschirmung schwächenden Heteroatomen zuzuordnen. Aus der Spin-Spin-Koppelung dieser zwei Protonen ist ersichtlich, daß sie an benachbarten C-Atomen sitzen.

Die nach der Methylenchlorid-Extraktion zurückbleibende wässrige Lösung des Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungsansatzes behandelte ich nach dem gleichen Untersuchungsverfahren. Die zwei Hauptkomponenten im Gaschromatogramm wurden durch GC-Splitting gesammelt. Eine Substanz stellt ein farbloses Öl dar.

IR-, NMR- und Massenspektren ließen auf 4,5-Dimethoxy-3-methyl-2-oxazolidon (40) schließen. Diese Verbindung ist in der Literatur bisher nicht beschrieben.



40

Im IR-Spektrum findet man für die Carbonylgruppe eine Bande bei 1745 cm^{-1} . In der Literatur ist für ähnliche Verbindungen eine Carbonylbande bei 1740 cm^{-1} angegeben³⁶⁾.

Das Massenspektrum weist lediglich durch die Fragmentierung M^+ -31-31 auf zwei Methoxygruppen hin.

Das NMR-Spektrum (Abb.8) zeigt eine Absorption der N-Methylgruppe bei $\tau\ 6,50$. Die Signale der beiden O-Methylgruppen weisen die gleiche chemische Verschiebung auf, d.h. sie geben ein Singulett von 6 Protonen bei $\tau\ 6,09$. Die beiden benachbarten Protonen erscheinen als zwei Dubletts bei $\tau\ 5,42$ und $\tau\ 5,78$ mit der Kopplungskonstante $J=2,5\text{Hz}$. Diese Resonanzlage spricht für Methinprotonen, die durch zwei elektronenziehende Heteroatome entschirmt sind.

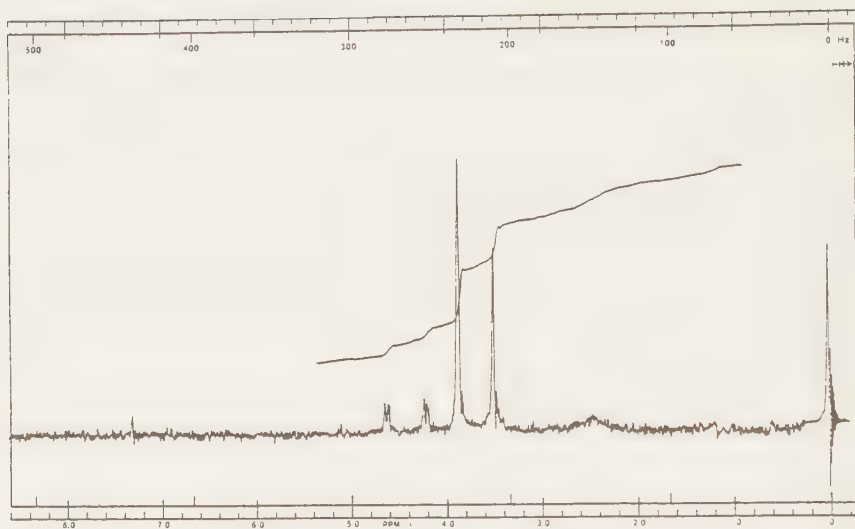
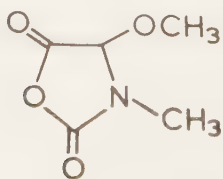
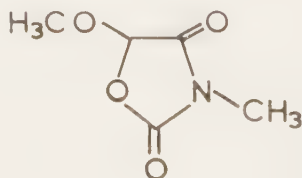


Abb.8: NMR-Spektrum von 40 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Nach IR-, NMR- und Massenspektren kommen für die zweite isolierte Substanz zwei Strukturen in Frage: 4-Methoxy-3-methyl-2,5-oxazolidindion (41) oder 5-Methoxy-3-methyl-2,4-oxazolidindion (42).



41



42

Die Interpretation des Massenspektrums erlaubt keine Entscheidung zwischen den beiden Strukturen; man findet lediglich die unspezifischen Abspaltungen von Carbonylgruppen und der Methoxygruppe.

Die beiden intensiven Carbonylbanden im IR-Spektrum bei 1750 cm^{-1} und 1730 cm^{-1} gestatten auch keine exakte Strukturzuordnung. Das Strukturelement eines Carbonsäureanhydrids unter dem Einfluß eines benachbarten N-Atoms - wie in 41 - führt zu ähnlichen CO-Schwingungsfrequenzen wie das eines Säureimids mit einem benachbarten O-Atom (siehe 42)³²⁾.

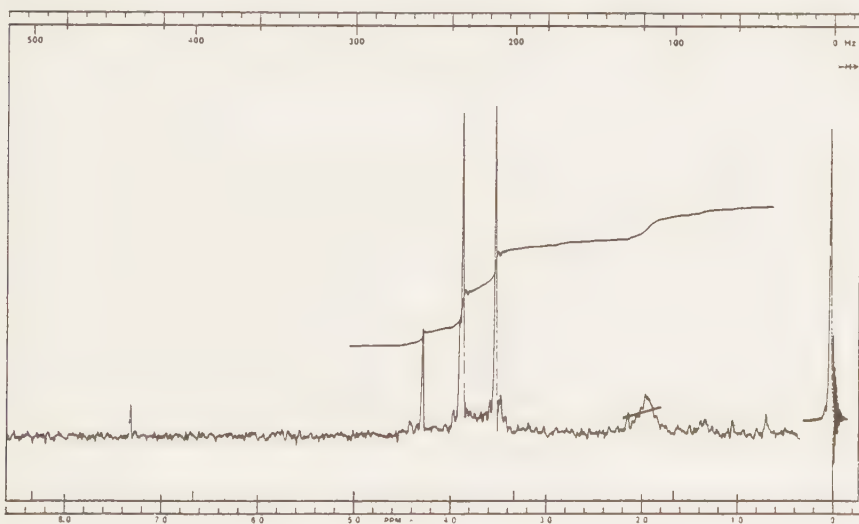


Abb.9: NMR-Spektrum von 41/42 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Das Singulett bei $\tau\ 6,11$ im NMR-Spektrum (Abb.9) ist der O-Methylgruppe zuzuordnen. Die Lage des Signals des Methinprotons bei $\tau\ 5,71$ ist mit beiden Strukturvorschlägen vereinbar; sie weist lediglich auf zwei benachbarte elektronenziehende Gruppen hin. Die Absorption der N-Methylgruppe bei $\tau\ 6,53$ spricht für die Struktur 41: Die Anisotropieeffekte der zwei

benachbarten Carbonylgruppen in 42 bewirken eine Verminderung der Abschirmung der Protonen, so daß diese bei tieferem Feld in Resonanz treten sollten. Die gleichen chemischen Verschiebungen der Protonen der N-Methylgruppen in 40 und 41 weisen auf ähnliche Strukturelemente hin. Dieser Vergleich läßt für diese bisher nicht beschriebene Substanz die Struktur 41 vermuten.

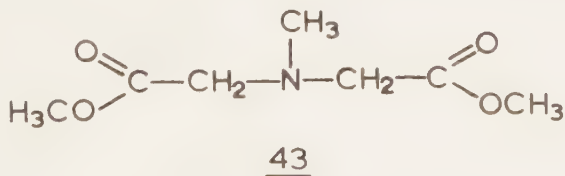
Da die Verbindungen 39, 40 und 41 nur in sehr geringen Mengen isoliert wurden, konnte ich keine weiteren Untersuchungen zur eindeutigen Klärung ihrer Strukturen anstellen.

2.6.

Für die Stabilität von Bier und Kakao bzw. Schokolade werden u.a. Reduktone verantwortlich gemacht³⁷⁾. Sie können beim Malzdarren, Würzekochen bzw. beim Rösten der Kakaosamen und beim Conchierprozeß entstehen; hier werden Temperaturen erreicht, unter denen die nichtenzymatischen Bräunungsreaktionen ablaufen können. Mit Hilfe der Methanolyse ist es möglich, zu prüfen, ob Amino-Hexose-Reduktone in diesen Lebensmitteln eine Rolle spielen. Ich erhitze eine Suspension von gefriergetrocknetem Dunkelbier bzw. Schokolade in Methanol mit p-Toluolsulfonsäure unter Rückfluß. Den im Hochvakuum destillierbaren Anteil des Reaktionsgemisches analysierte ich im GC-MS-System. Selbst mit dieser empfindlichen Nachweismethode konnte ich über die Reduktonmethyläther Amino-Hexose-Reduktone nicht nachweisen. Anscheinend spielen Amino-reduktone dieser Struktur in Bier und Schokolade keine Rolle. Die Komponenten in diesen Lebensmitteln, die für die Stabilität verantwortlich sind, besitzen offensichtlich eine andere chemische Struktur.

Die Anwendung der Methanolyse auf Bier bzw. Schokolade lieferte eine Fraktion, die sich gaschromatographisch in ca 70-80 Komponenten auftrennen ließ. Durch anschließende Aufnahme der Massenspektren konnte ich ca 20 Furan- und Pyranderivate identifizieren; die den übrigen GC-Peaks entsprechenden Verbindungen mit Massenzahlen von 200 bis 400 sind dem mittelmolekularen Bereich zuzuordnen. Weitere Untersuchungen wurden zunächst noch ausgesetzt. Es zeigte sich jedoch, daß die Methanolyse eine Methode darstellt, die die Palette der bisher bekannten Bräunungsprodukte erweitern sollte.

Eine interessante Verbindung konnte ich durch GC-Splitting isolieren und nach Aufnahme und Interpretation der IR-, NMR- und Massenspektren als Methyliminodiessigsäuredimethylester (43) identifizieren.



Im Massenspektrum deutet die zweimalige Abspaltung von Methanol mit anschließender Eliminierung von $\text{CH}_2=\text{C}=\text{O}$ auf ein doppeltes Essigsäuremethylester-Strukturelement. Das IR-Spektrum zeigt eine sehr intensive Carbonylschwingungsbande bei 1735 cm^{-1} .

Im NMR-Spektrum (Abb.10) ergibt die N-Methylgruppe ein Singulett bei $\tau 7,12$, die beiden O-Methylgruppen ein Singulett bei $\tau 6,24$ und die zwei Methylengruppen ein Singulett bei $\tau 6,09$.

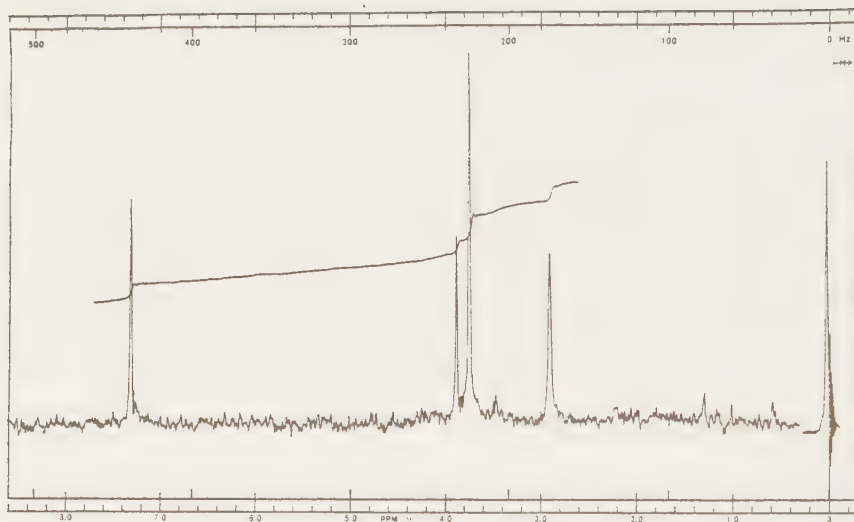
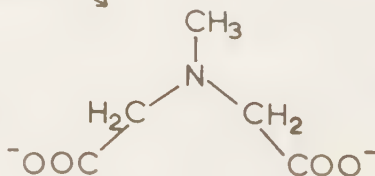


Abb.10: NMR-Spektrum von 43 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Zum Strukturbeweis synthetisierte ich Verbindung 43 durch folgende Reaktionsschritte³⁸⁾.



43



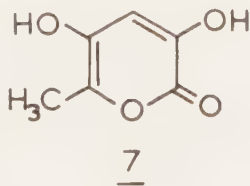
Der Vergleich der IR-Spektren zeigt die Identität von isolierter und synthetisierter Substanz. Der Verbindung 43, die sowohl in Bier als auch in Schokolade gaschromatographisch in relativ hoher

Konzentration nachweisbar ist, liegt die Methyliminodiessigsäure zugrunde. Es bleibt offen, ob sie, ein Chelatbildner für Schwermetalle³⁹⁾, originär in diesen Lebensmitteln vorliegt oder unter den Bedingungen der Methanolyse gebildet wird.

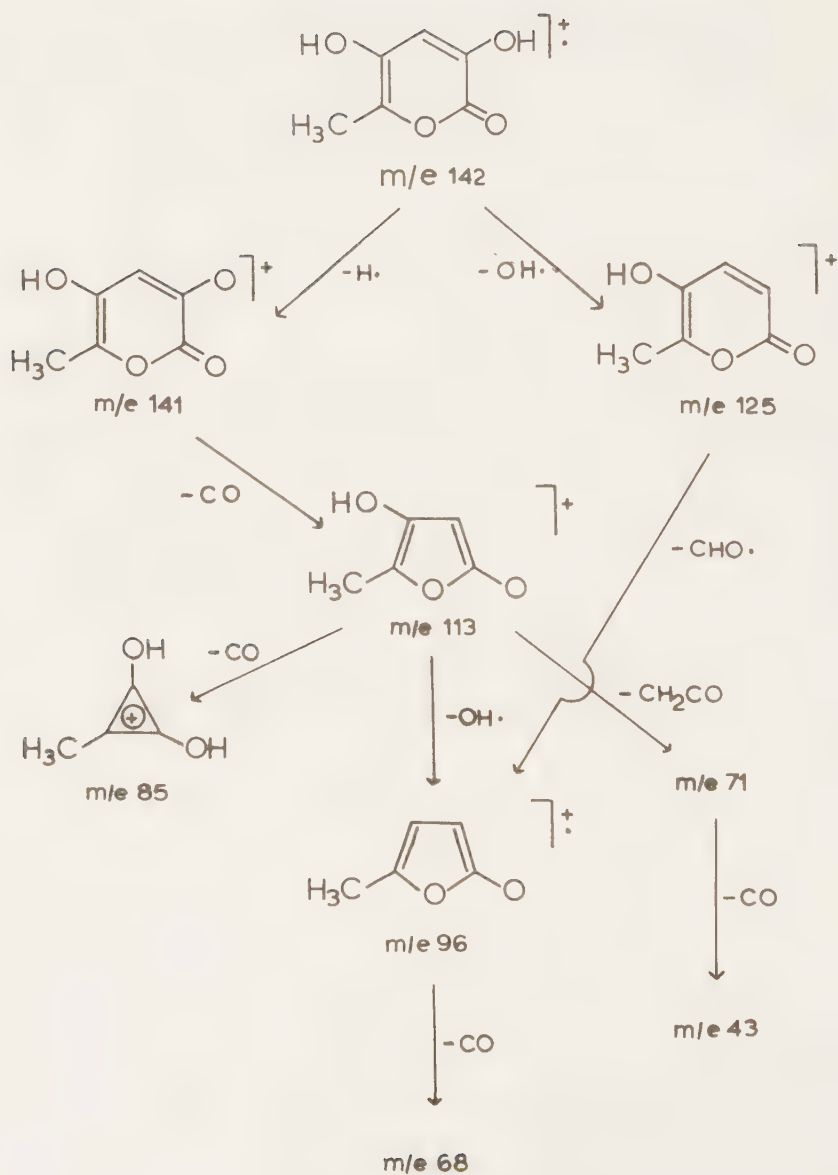
3. 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (7)

3.1.

Der Methylenchloridextrakt des Bräunungsansatzes Glucose/Diäthylammoniumtartrat ergibt nach der Hochvakuumdestillation ein hellgelbes Öl, das gaschromatographisch aufgetrennt wurde (siehe S.4). Die Einzelkomponenten wurden in luftgekühlten Glaskapillaren gesammelt. Eine Substanz, die auf diese Weise in Form von farblosen Kristallen isoliert wurde, konnte auf Grund der Spektren als 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (7) identifiziert werden. Diese Verbindung ist in der Literatur bisher nicht beschrieben.



Die Elementaranalyse ergab die Zusammensetzung $C_6H_6O_4$. Der Molekülpeak des Massenspektrums zeigte das Molekulargewicht 142 an. Wichtige Strukturmerkmale wurden durch die Interpretation des massenspektrometrischen Zerfalls erkannt (Schema 5).



Schema 5

Nach Abspaltung eines H-Radikals wird aus dem $M^+ - 1$ Ion CO eliminiert, wobei das Furan-Fragment m/e 113 entsteht; diese Ringverengung ist für 2-Pyrone charakteristisch⁴⁰⁾. Die Abspaltung von CO aus dem Bruchstück m/e 113 führt zu einem Cyclopropenylkation (m/e 85), dessen hohe Intensität (100%) durch Resonanzstabilisierung zu erklären ist. Vom Fragment m/e 113 gehen zwei Zerfallswege, die zu den dominierenden Bruchstücken m/e 96, 71, 68 und 43 führen.

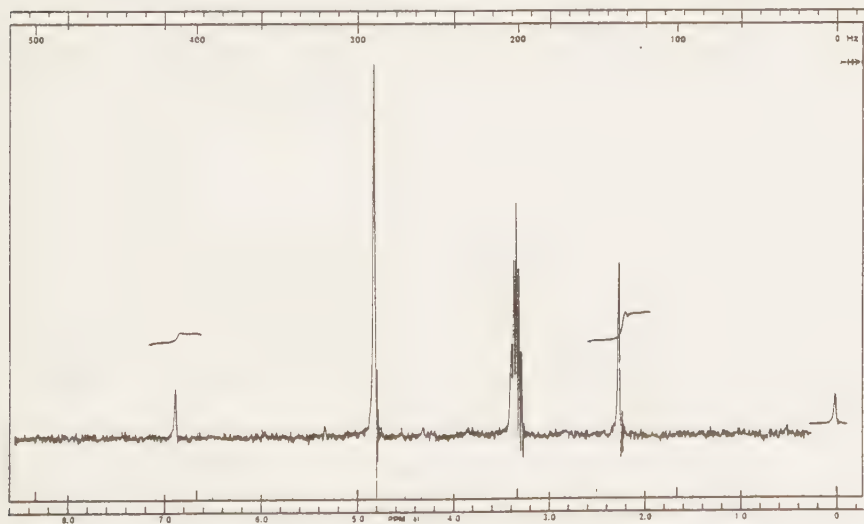
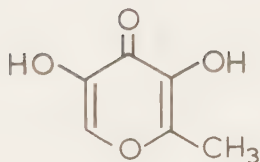


Abb.11: NMR-Spektrum von 7 in CD_3OD ⁷⁸⁾

Im NMR-Spektrum (Abb.11) findet man für die Methylgruppe und das ringständige Proton jeweils Singulets bei τ 7,72 und τ 3,10. Das isomere 3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on (10), ein bekanntes Zuckerumwandlungsprodukt⁴¹⁾, weist die entsprechenden Singulets bei τ 7,68 und τ 2,12 auf.



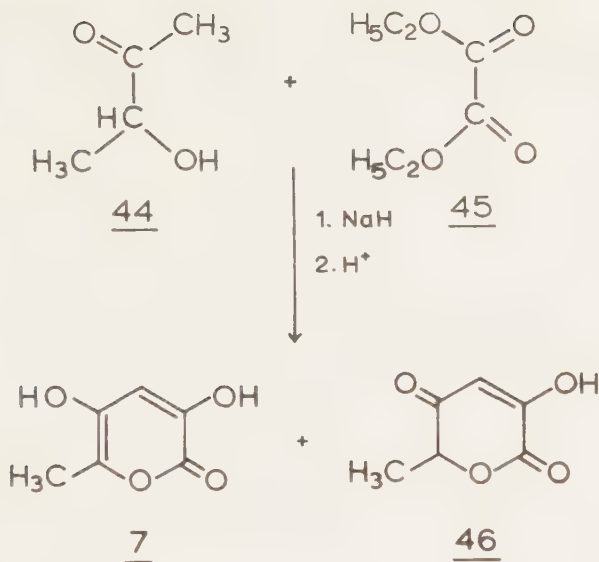
10

7 zeigt im IR-Spektrum die OH-Schwingungsbanden bei 3400 cm^{-1} und intensive Absorptionsbanden bei 1695 , 1630 und 1510 cm^{-1} . Ähnliche Banden sind in der Literatur für 2-Pyrone angegeben⁴²⁾. Die Bande bei 1695 cm^{-1} ist der Carbonylgruppe zuzuordnen; hier unterscheidet sich 7 deutlich von dem isomeren 4-Pyron 10, dessen Carbonylbande bei 1645 cm^{-1} liegt.

3.2.

Die angenommene Struktur ergibt sich auch aus einer unabhängigen Synthese (Schema 6). Kondensiert man äquimolare Mengen 3-Hydroxybutan-2-on (44) und Oxalsäurediäthylester (45) mit Natriumhydrid als Base, so erhält man nach Ansäuern ein Gemisch der Tautomeren 7 und 46, die sich durch fraktionierte Sublimation trennen lassen. Das so gewonnene 2-Pyron 7 ist den Spektren nach identisch mit dem aus Glucose erhaltenen Produkt. Erhitzt man das Ketolacton 46 mit Säuren, so lagert es sich in das Dihydroxy-2-pyron 7 um.

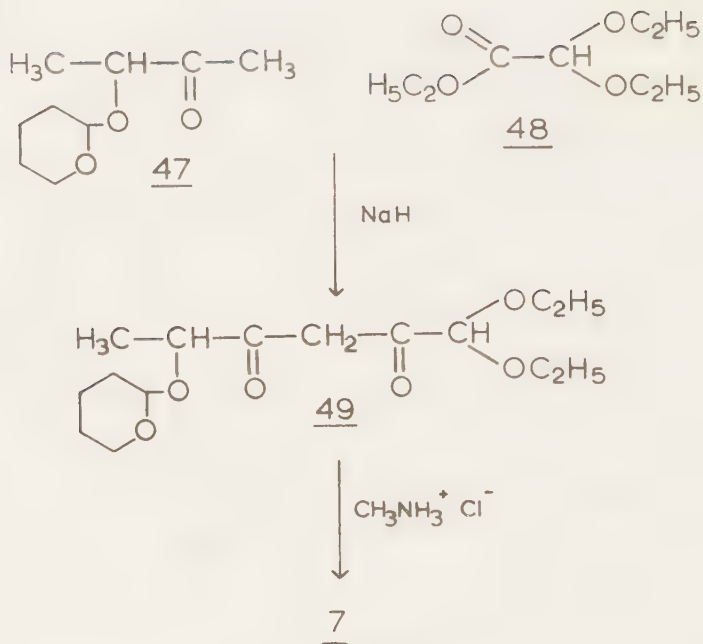
Im NMR-Spektrum von 46 erscheint die Methylgruppe als Dublett bei $\tau\ 8,31$ ($J=8\text{Hz}$). Für die Lacton- und Ketocarbonylgruppe findet man im IR-Spektrum Banden bei 1725 cm^{-1} und 1715 cm^{-1} . Läge ein Fünfringlacton vor, so müßten Banden bei höheren Frequenzen auftreten.



Schema 6

In einer unerwarteten Reaktionsfolge, die im Schema 7 wiedergegeben ist, erhielt G. Manninger⁴³⁾ Verbindung 7. In der Absicht ein Hydroxypyrrolderivat darzustellen, erhitzte er das Kondensationsprodukt 49 aus 3-(Tetrahydro-2-pyran-yl-oxy)-butan-2-on (47) und Diäthoxyessigsäureäthylester (48) mit Methylammoniumchlorid. Überraschenderweise erhielt er ohne Zusatz eines Oxidationsmittels das 2-Pyron 7.

Der Reaktionsschritt (49 → 7) beinhaltet eine Dehydrierung des primär gebildeten Halbacetals zum Lacton. In diesem Zusammenhang ist von Interesse, daß auch 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (5) leicht zum 3,5-Dihydroxy-2-methyl-4H-pyran-4-on (10) oxidiert wird⁴⁴⁾.

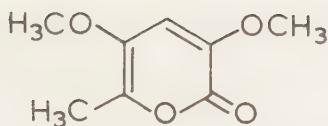


Schema 7

3.3.

Da Verbindung 7 auf synthetischem Wege in großer Menge erhältlich ist, lag es nahe, dieses interessante Zuckerumwandlungsprodukt durch chemische Umsetzungen zu charakterisieren.

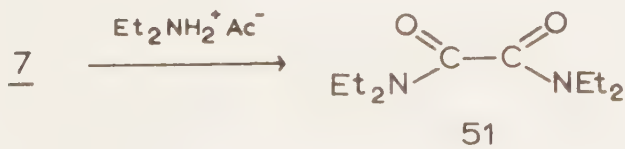
Durch Methylierung mit Thallium(I)-äthylat und Methyljodid erhielt ich den Dimethyläther 50 (Spektraldaten im experimentellen Teil).



50

2-Pyrone reagieren mit primären Aminen bzw. den entsprechenden Ammoniumsalzen zu 2-Pyridonen. Ich kochte Verbindung 7 mit Methylamin bzw. Methylammoniumacetat in wässriger Lösung unter Rückfluß, d.h. unter den Bedingungen, wie wir sie bei Bräunungsansätzen vorfinden. Sowohl im basischen als auch im neutralen Milieu fand keine Umsetzung zum entsprechenden 2-Pyridon statt, das als potentiellendes Zucker-Amin-Bräunungsprodukt zu betrachten ist. Im Reaktionsgemisch konnte neben schwarzbraunen Zersetzungsprodukten die Ausgangssubstanz 7 nachgewiesen werden.

In analogen Umsetzungen mit Diäthylamin bzw. seinem Acetat blieb das 2-Pyron 7 unverändert. Erst unter den drastischen Bedingungen eines Bombenrohrversuchs bei 130° erfolgte eine Ringaufspaltung mit Diäthylammoniumacetat, wobei Oxalsäure-bis-diäthylamid 51 isoliert wurde.



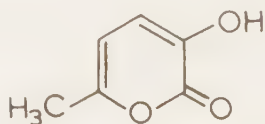
Eine Schlüsselreaktion bei der Bildung der Melanoidine ist die C,C-Verknüpfung von Methylene- und Carbonylfunktionen tragenden Zuckerumwandlungsprodukten⁷⁾.

Das Dihydroxy-2-pyron 7 sollte mit Aldehyden kondensieren; vergleichbar ist diese Reaktion mit der Kondensation von Dimedon mit Aldehyden. Ich erhitzte 7 mit Furfural und Piperidin als Katalysator in Äthanol auf Siedetemperatur. Bei diesen Reaktionsbedingungen blieb das 2-Pyron 7 weitgehend unumgesetzt.

3.4.

Meine Untersuchungen über das chemische Verhalten des 2-Pyrons 7 zeigen, daß 7 unter den Bedingungen der Bräunungsreaktion beständig ist; es ist anzunehmen, daß es als Zwischenstufe der Melanoidinbildung im Verlauf der Maillard-Reaktion keine Rolle spielt. 2-Pyrone fanden vor allem Beachtung, als man Derivate bei der Strukturaufklärung von Naturstoffen entdeckte. Herzwirksame Glykoside des Bufadienolid-Typs enthalten das 2-Pyron-Strukturelement⁴⁵⁾; der Hauptinhaltsstoff der Coto-Rinde, das Paracotoin, zählt ebenfalls zu diesem Verbindungstyp⁴⁶⁾. Eine Rauschgiftdroge der Südsee enthält ein Methoxy-dihydro-2-pyron-Derivat, das Kawain⁴⁷⁾.

3-Hydroxy-2-Pyrone entstehen bei der Einwirkung von starken Alkalien oder Säuren auf Zuckersäuren⁴⁸⁻⁵⁰⁾, z.B. Verbindung 52 aus Rhammolacton.



52

3,5-Dihydroxy-2-pyrone sind in der Literatur bisher nicht erwähnt worden. Die von mir aus dem Glucose-Diäthylammoniumtartrat-Bräunungsansatz isolierte und synthetisierte Substanz 7 stellt somit den ersten Vertreter dieser Verbindungsreihe dar. Im weiteren Verlaufe meiner Arbeit führte ich thermische Umsetzungen verschiedener Zucker mit verschiedenen Aminosäuren durch und prüfte auf die Anwesenheit von Verbindung 7. Die GC-MS-Methode ermöglicht eine rasche und exakte Analyse der flüchtigen Verbindungen eines Zuckerbräunungsgemisches. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind in Tabelle 2 dargestellt.

ZUCKERKOMPONENTE	AMINKOMPONENTE	NACHWEIS VON <u>7</u>
Glucose	Diäthylamin	+
"	Methylamin	-
"	Triäthylamin	-
"	Prolin	-
"	Hydroxyprolin	-
"	Lysin	-
"	Casein	-
Fructose	Diäthylamin	+
Galaktose	"	+
Lactose	"	-
Maltose	"	-
Saccharose	"	-

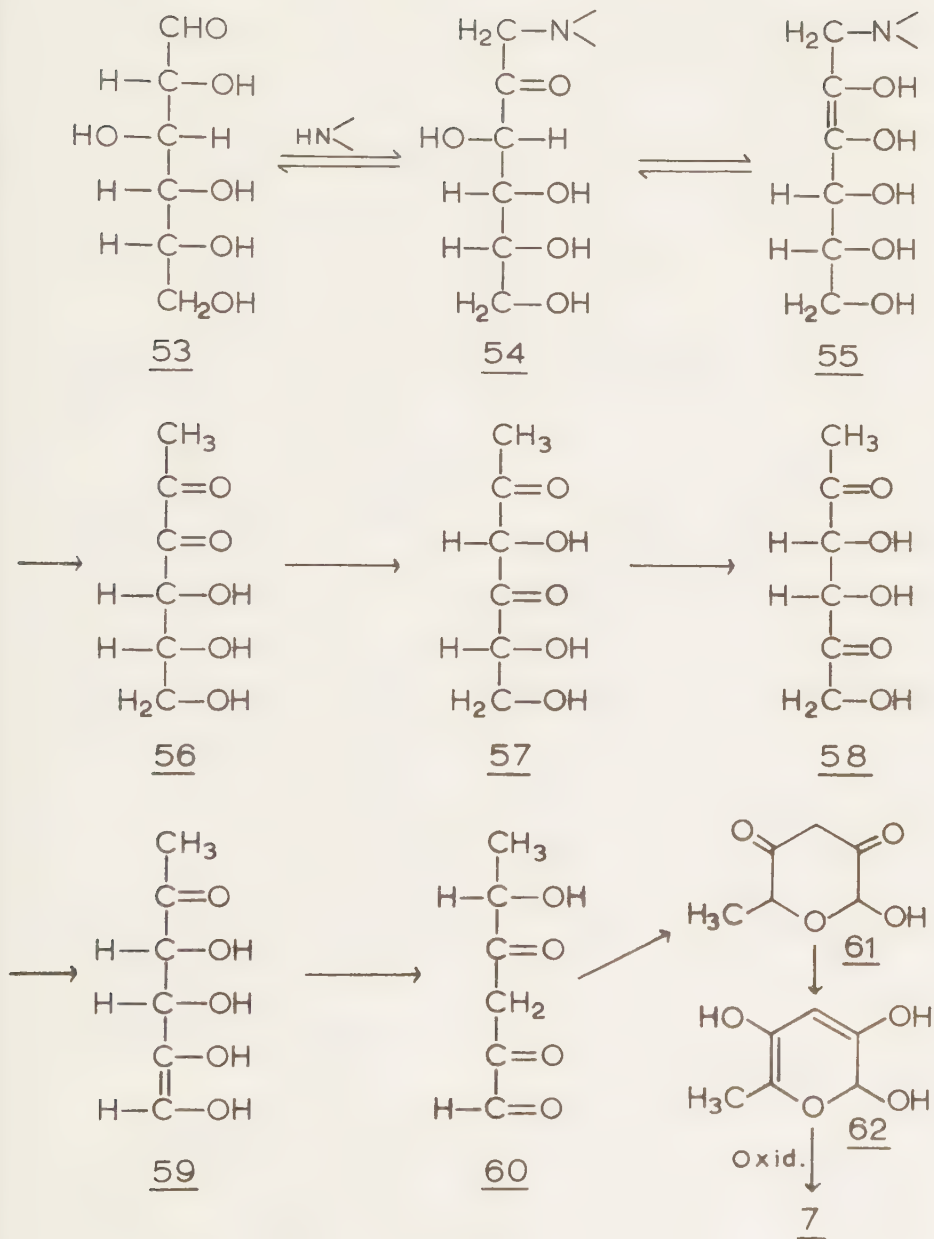
Tabelle 2

Bemerkenswert ist, daß das 2-Pyron 7 lediglich bei der thermischen Umsetzung von Monosacchariden mit sekundären Ammoniumsalzen gebildet wird. Die Ausbeute an Verbindung 7 steigt (ca 0,15% bez. auf Glucose), wenn man Monosaccharide mit Diäthylammoniumtartrat in Abwesenheit von Lösungsmitteln auf 130° erhitzt. Diese Karamelisierungsprozesse entsprechen den Bedingungen bei der Hitzebehandlung von Lebensmitteln. Erstaunlicherweise setzen sich Disaccharide mit sekundären Aminen nicht zu Verbindung 7 um. Da weder Casein, Lysin noch die Aminosäuren mit einer sekundären Aminkomponente, Prolin und Hydroxyprolin, mit Glucose Verbindung 7 bilden, ist das Auftreten dieser Substanz in hitzebehandelten Lebensmitteln fraglich.

3.5.

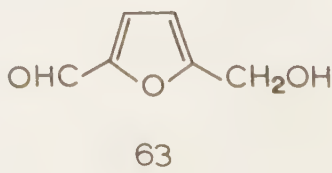
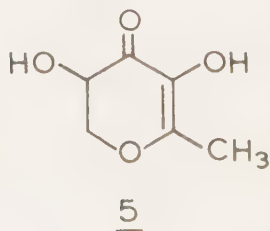
Ein möglicher Mechanismus für die Bildung von 7 ist in Schema 8 wiedergegeben.

Glucose (53) und sekundäres Amin bilden zunächst ein Glykosylamin, aus dem in einer Amadori-Umlagerung 1-Desoxy-1-amino-fructose (54) entsteht. Das 1-Amino-2,3-endiol 55 spaltet leicht die allylständige Aminogruppe ab. Durch Keto-Enol-Tautomerie bildet sich das 1-Desoxyoson 56. Weitere aminkatalysierte Keto-Enol-Tautomerisierungen führen zu dem Endiol 59, dessen allylständige Hydroxylgruppe leicht eliminiert werden kann, wobei die Triketoverbindung 60 entsteht. Durch Ringschluß und zweifache Enolisierung bildet sich das Halbacetal 62, das nach Dehydrierung das 2-Pyron 7 ergibt. Als Oxidationsmittel kommen im Reaktionsgemisch vorhandene Di- oder Triketoverbindungen in Frage.



Schema 8

Dieser Reaktionsmechanismus erklärt jedoch nicht den experimentellen Befund, daß Disaccharide mit sekundären Aminen nicht Verbindung 7 bilden. Daß 7 bei thermischen Umsetzungen von Monosacchariden mit primären Aminen nicht gefunden wurde, kann dadurch verständlich gemacht werden, daß primäre Amine sich mit den Osonen bevorzugt zu Pyrrolderivaten umsetzen bzw. über N-Heterocyclen zur Melanoidinbildung führen. Diese Wege können jedoch mit einem sekundären Amin nicht eingeschlagen werden. Thermische Umsetzungen von Zuckern mit sekundären Aminen weisen im Vergleich zu den mit primären Aminen bzw. Aminosäuren Besonderheiten auf. Nur wenige Verbindungen, die in diesem Reaktionssystem entstehen, wurden bisher in Lebensmitteln nachgewiesen. Versuche sollten klären, ob die Säureamidgruppierung eines Peptids die Funktion eines sekundären Amins bei der thermischen Umsetzung mit Zuckern übernehmen kann. Ich erhitzte Glucose mit N-Methylacetamid als Modell eines Peptids in Wasser am Rückfluß. Es fand keine Bräunung statt und im Methylenchloridextrakt der farblosen wässrigen Lösung konnte ich mit der empfindlichen GC-MS-Methode keine Zuckerumwandlungsprodukte nachweisen. Erst nach Erhitzen ohne Lösungsmittel auf 150° fand ich in geringen Mengen 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2,3-dihydro-4H-pyran-4-on (5) und Hydroxymethylfurfural (63).



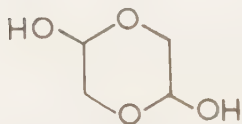
Es zeigte sich, daß das Strukturelement eines sekundären Säureamids, wie es im Peptid vorliegt, in seiner Reaktivität nicht vergleichbar ist mit einem sekundären Amin und die Bildung von Zuckerumwandlungsprodukten nicht katalysiert.

4. Umsetzungen von reduzierenden Zuckern mit primären Ammoniumsalzen

Thermische Umsetzungen von Zucker mit primären Aminen können die Bräunungsreaktionen von Zuckern mit Aminosäuren oder Proteinen - wie sie in Lebensmitteln ablaufen - besser als das Modellsystem Zucker/sekundäres Amin simulieren. Varianten dieser Modellreaktionen bestehen in der Verwendung von Zuckerbruchstücken; als einfachste Verbindungen, die die charakteristischen Merkmale der Zucker aufweisen, sind Erythrose, Glycerinaldehyd, Dihydroxyaceton, mit Einschränkungen auch Glykolaldehyd anzusehen. Diese Hydroxycarbonylverbindungen können aus Glucose durch Retroaldolspaltung unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion gebildet werden⁵¹⁾. Sie sind daher in Lebensmitteln häufig zu finden und dürften an der Aroma- und Melanoidinbildung wesentlich beteiligt sein.

4.1. Erkennungsreaktionen von Glykolaldehyd mit Methyl- ammoniumtartrat

Glykolaldehyd, das einfachste Modell für einen Zucker, liegt im festen Zustand als Gemisch der zwei isomeren Dimere 2,5-Dihydroxy-1,4-dioxan (64) und 4-Hydroxy-2-hydroxymethyl-1,3-dioxolan (65) vor. In wässriger Lösung wandeln sich die beiden Dimere langsam in das Monomere um⁵²⁾.



64



65

Im Experiment wurde Glykolaldehyd mit Methylammoniumtartrat im Molverhältnis 2:1 in wässriger Lösung 10 min. unter Rückfluß gekocht. Bereits nach etwa 1 min. färbte sich die Reaktionsmischung intensiv braun. Die mit Methylenchlorid extrahierbaren Anteile destillierte ich bei etwa 0,1 Torr bis 150°. Wegen der geringen Substanzmengen wurde die Trennung des gelben, öligen Destillats gaschromatographisch vorgenommen (Abb.12). Im GC-MS-System wurde von jeder aufgetrennten Substanz sofort das Massenspektrum gemessen. Die identifizierten Verbindungen sind mit ihren MS-Daten in Tabelle 3 aufgeführt.

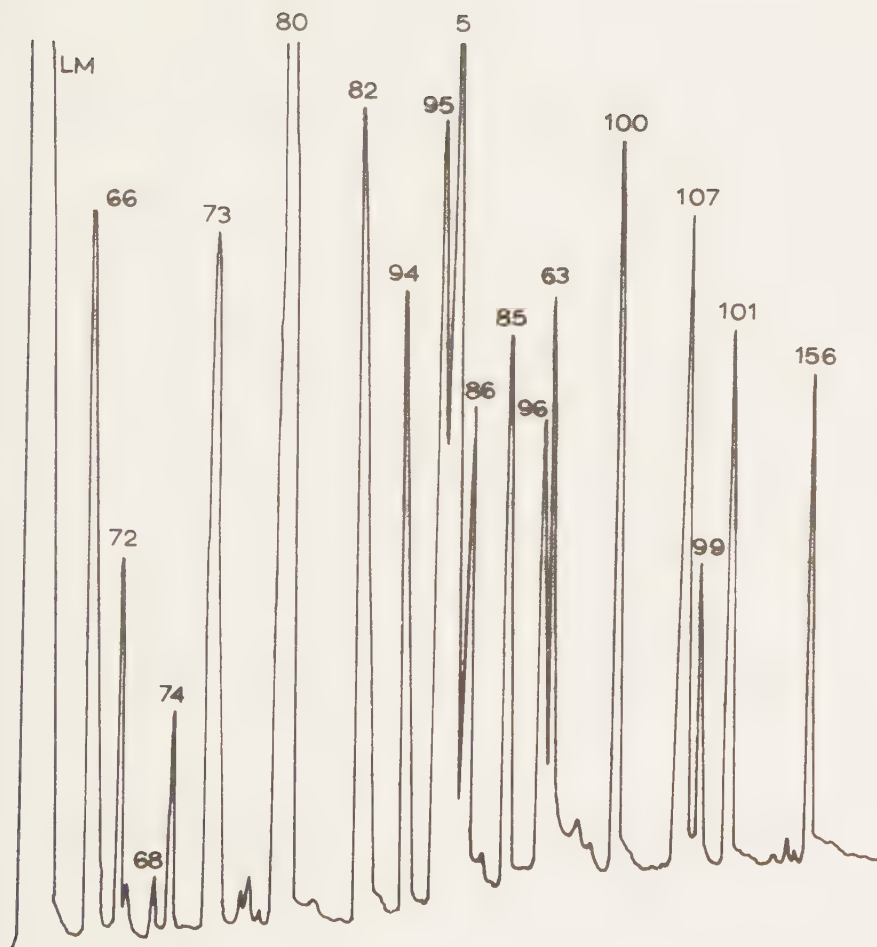
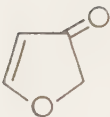
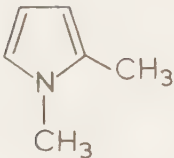
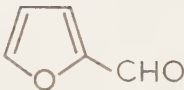
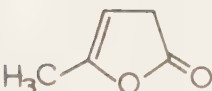
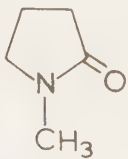
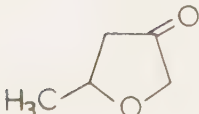
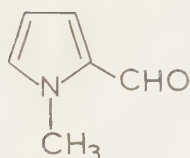


Abb.12: GC des Bräunungsgemisches Glykolaldehyd/Methyl-
ammoniumtartrat

Tabelle 3

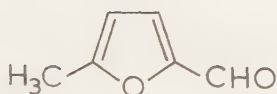
66		84(82), 55(100), 54(24), 39(70)
67		95(90), 94(100), 67(10), 53(25), 42(40)
68		96(100), 95(88), 39(34)
69		97(84), 68(100), 54(65), 42(37), 41(15)
70		98(60), 83(81), 55(100), 43(73)
71		99(100), 98(68), 71(12), 44(86) 43(20), 41(40)
72		100(23), 72(42), 45(20), 44(22), 43(100)

73



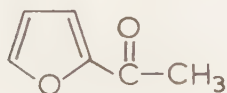
109(100), 108(85), 80(30),
53(45)

74



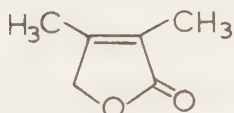
110(100), 109(88), 53(43),
39(16)

75



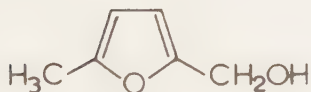
110(45), 95(100), 74(52),
43(45)

76



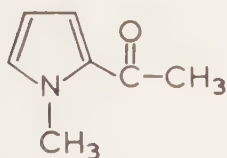
112(48), 83(67), 55(100),
39(23)

77



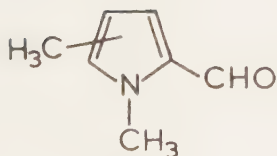
112(84), 111(30), 95(100),
69(28), 43(64)

78



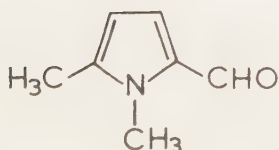
123(87), 108(100), 80(30),
53(41), 39(25)

79

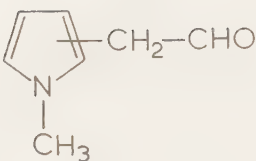
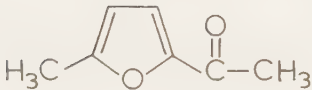
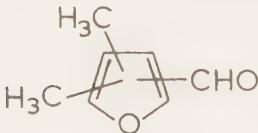
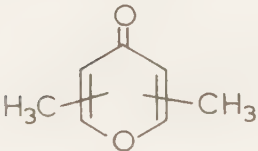
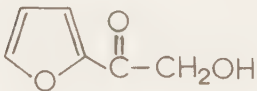
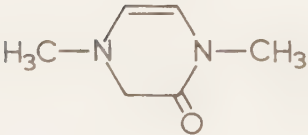
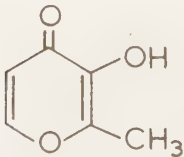
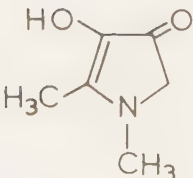


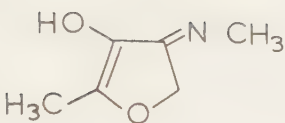
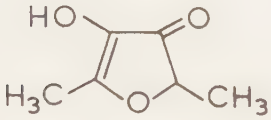
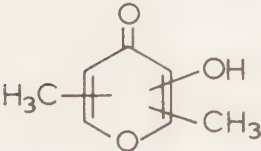
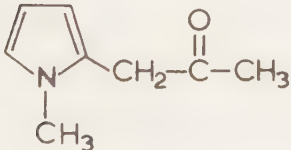
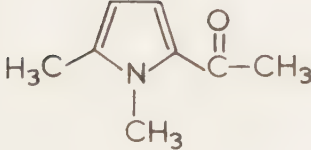
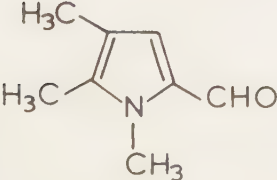
123(100), 122(99), 94(42),
67(25), 53(24)

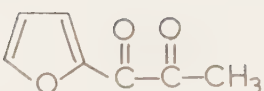
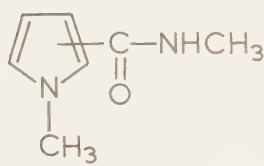
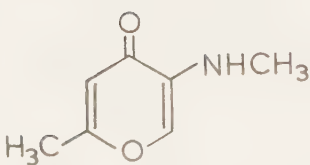
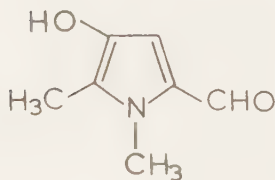
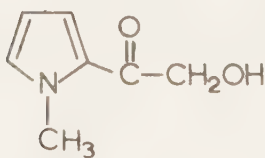
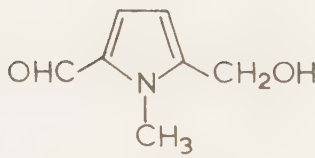
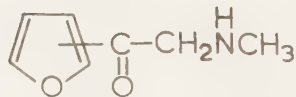
80



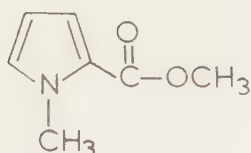
123(100), 122(71), 108(35),
94(55), 67(41), 53(79)

- 81  123(100), 122(100), 108(7),
94(38), 67(8), 53(15)
- 82  124(46), 109(100), 79(77),
53(34), 43(36), 39(19)
- 83  124(100), 123(91), 111(67)
95(78), 53(45), 43(17)
- 84  124(100), 96(26), 95(25)
69(60), 43(82)
- 85  126(22), 95(100), 69(29),
57(17), 39(18)
- 86  126(27), 99(100), 85(19),
71(27), 69(25), 58(22),
57(19), 43(92)
- 87  126(100), 71(47), 55(18),
43(36)
- 88  127(100), 99(21), 98(51),
84(16), 70(11), 57(12),
55(9), 42(61)

- 89  CN=C1C(=C(C)O)OC1 127(100), 112(20), 99(10)
82(21), 58(92), 43(47)
- 90  OC[C@H]1C=CC(=C1)CO 128(35), 111(100), 71(42),
69(32), 53(18), 39(27)
- 91  CC1=C(C)C(=O)C(O)=CO1 128(50), 82(24), 57(31),
43(100)
- 92  CC1=C(C)C(=O)C(O)=CC1=O 140(72), 115(100), 101(78)
84(97), 56(52), 43(33)
- 93  CC(=O)CC1=C(C)N(C)C=C1 137(81), 94(100), 67(62),
53(29), 43(75), 42(38)
- 94  CC(=O)CC1=C(C)N(C)C=C1C 137(71), 122(100), 94(40),
67(22), 53(55)
- 95  CC1=C(C)C(=C(C)C=O)N1C 137(100), 136(95), 122(52)
108(77), 94(12), 67(29)

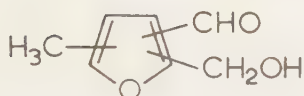
- 96  138(16), 95(100), 67(12),
55(30), 43(40), 39(25)
- 97  138(100), 108(72), 80(85),
53(42)
- 98  139(100), 138(42), 110(70),
95(84), 82(13), 69(15),
55(34), 39(19)
- 99  139(97), 138(100), 124(15),
110(33), 82(9), 69(14),
56(23)
- 100  139(70), 108(100), 80(33)
53(41), 43(15)
- 101  139(100), 138(25), 124(21),
122(60), 110(25), 94(26),
82(34), 67(31)
- 102  139(100), 138(50), 110(42),
96(34), 67(8), 55(15)

103



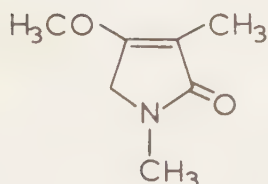
139(74), 108(100), 80(37),
53(22), 43(15)

104



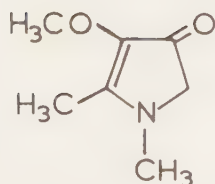
140(38), 123(27), 111(100),
109(48), 81(22), 53(40)

105



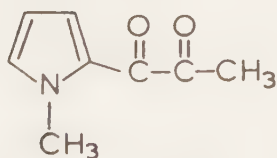
141(100), 126(19), 71(56),
55(32), 43(17)

106



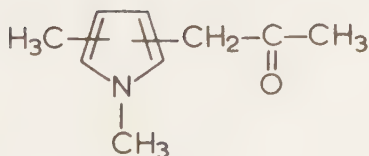
141(56), 126(42), 99(100),
73(29), 55(21), 43(67)

107



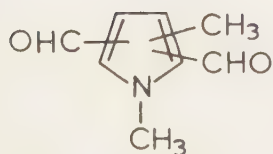
151(33), 136(30), 108(100),
80(17), 53(38), 43(10),
39(32)

108

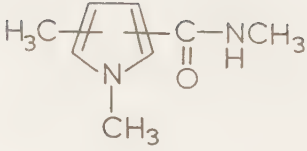
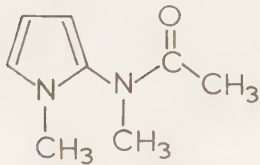
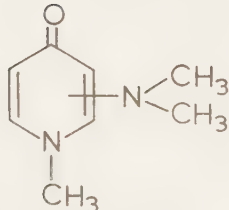
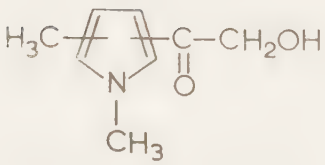
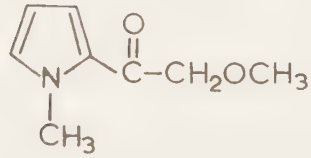
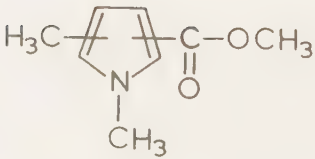


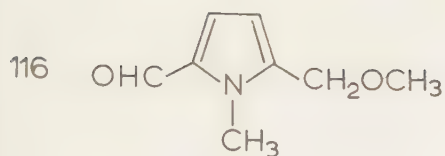
151(18), 108(100), 94(15),
67(8), 53(12), 43(54)

109

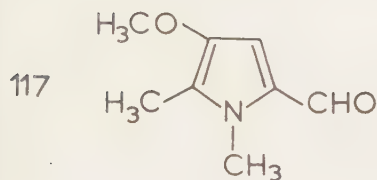


151(99), 150(23), 136(37),
122(100), 108(46), 94(17),
53(15)

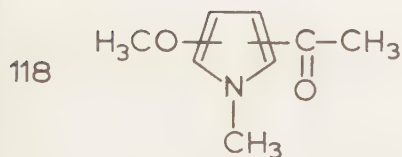
- 110  CN(C)C(=O)c1cc(C)cc1N(C) 152(62), 122(100), 94(43),
53(47), 42(48)
- 111  CC(=O)N(C)c1ccn(C)c1 152(100), 110(78), 109(74),
95(67), 82(21), 81(37),
67(19), 43(17), 42(20)
- 112  CN(C)c1cc(C(=O))cc(C1N(C)C)cc1 152(61), 137(100), 123(52),
110(37), 94(18), 82(23),
56(17)
- 113  CN(C)C(=O)COc1cc(C)cc1N(C) 153(63), 122(100), 94(42),
67(22), 43(82)
- 114  COC(=O)Cc1ccn(C)c1 153(54), 108(100), 80(77),
53(25), 39(19)
- 115  COC(=O)c1cc(C)cc1N(C) 153(67), 122(100), 94(45),
53(27), 39(20)



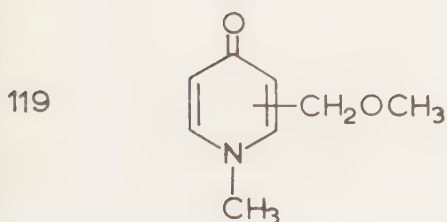
153(88), 152(28), 138(15),
 124(100), 108(52), 94(42),
 53(47), 42(44)



153(100), 138(80), 110(30),
 82(30), 67(31), 56(60),
 55(62), 43(49)



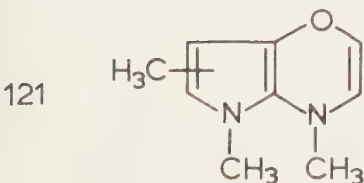
153(85), 138(100), 122(25),
 110(27), 82(33), 67(29),
 42(45)



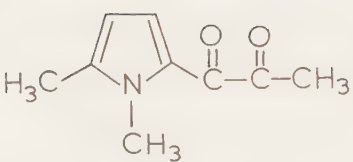
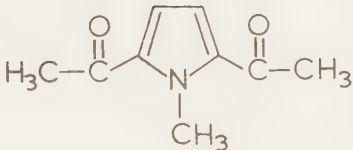
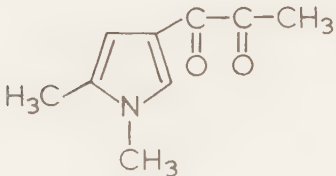
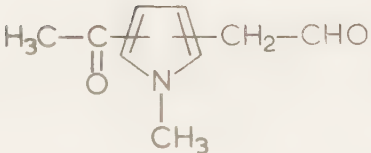
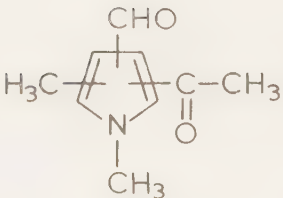
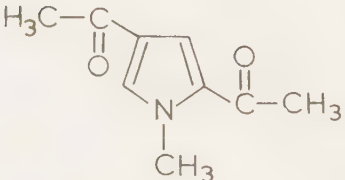
153(82), 138(33), 124(41),
 122(100), 108(51), 94(47),
 82(28), 69(31), 55(10)



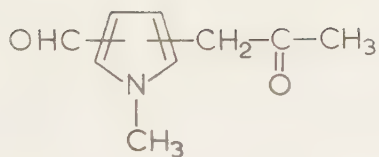
154(58), 109(100), 81(37),
 53(22), 43(15)



164(100), 149(15), 110(78),
 94(27), 82(35), 69(23),
 55(49), 43(41)

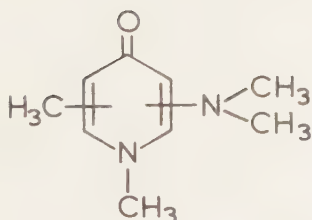
- 122  165(40), 122(100), 94(39),
67(32), 53(70), 43(49)
- 123  165(80), 150(100), 122(69),
108(61), 94(7), 80(34),
53(52), 43(77)
- 124  165(45), 150(21), 122(100),
108(15), 94(33), 67(25),
53(45)
- 125  165(31), 150(33), 136(56),
122(100), 94(37), 67(48),
53(65), 43(28), 42(69)
- 126  165(70), 150(100), 136(97),
122(98), 108(84), 94(14),
80(17), 67(21), 53(35),
43(53), 42(48)
- 127  165(75), 150(100), 122(16),
108(31), 80(22), 53(58),
43(59)

128



165(36), 150(36), 156(40),
122(100), 108(25), 94(18),
67(34), 53(19), 43(70)

129



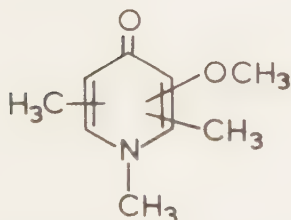
166(51), 151(100), 137(29),
110(22), 94(13), 82(37),
56(13)

130



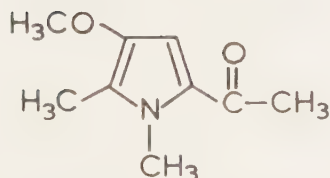
166(72), 151(100), 123(21),
109(70), 95(12), 81(19),
67(16), 53(28), 43(95)

131



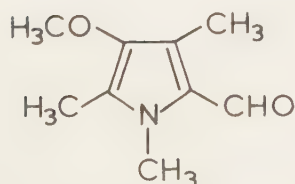
167(100), 152(62), 138(77),
122(16), 110(17), 82(23),
68(31), 55(12)

132

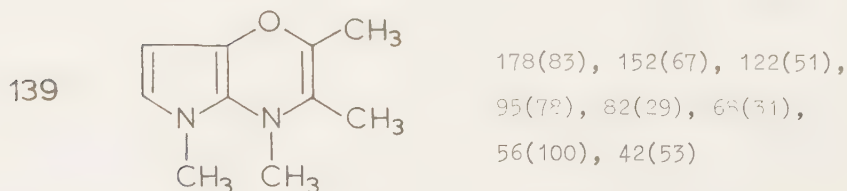
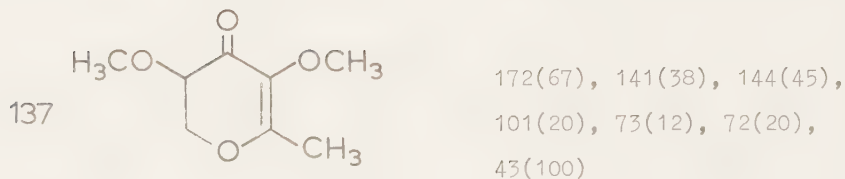
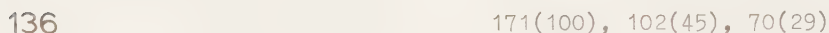
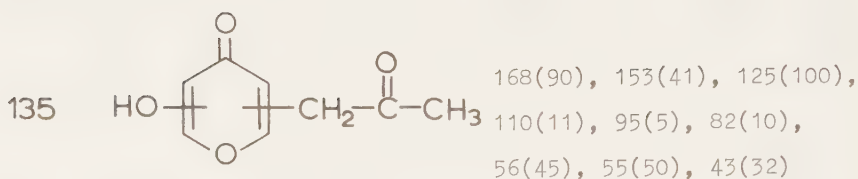
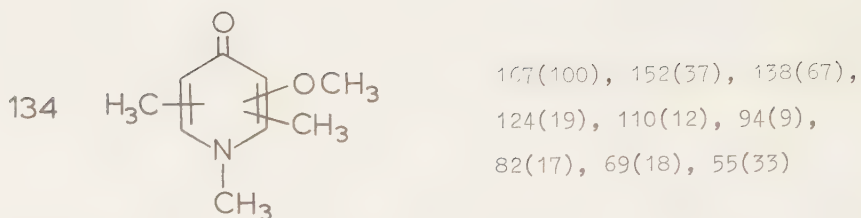


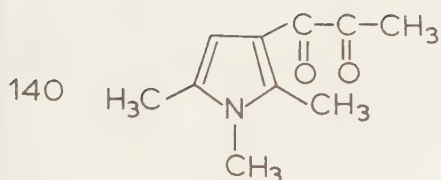
167(77), 152(100), 124(62),
110(50), 82(43), 57(61)

133

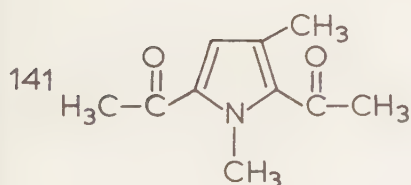


167(71), 166(29), 152(100),
138(27), 124(33), 110(22),
94(25), 82(31), 56(77)

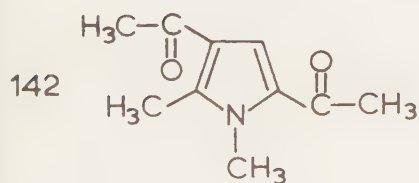




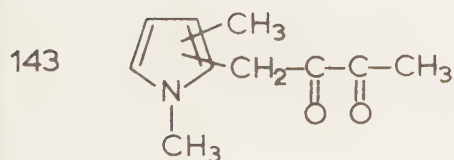
179(40), 136(100), 122(42),
108(22), 67(55)



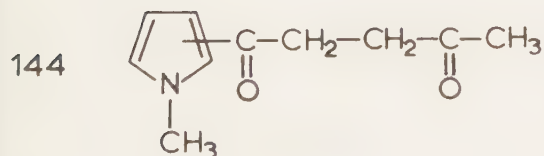
179(77), 164(100), 136(54),
122(58), 94(43), 67(31),
53(46), 43(50)



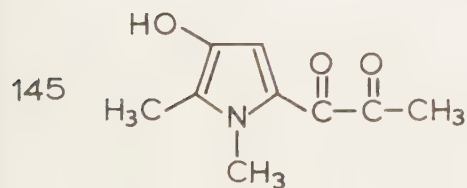
179(44), 164(100), 137(18),
136(16), 122(60), 108(7),
94(12), 53(15), 43(30)



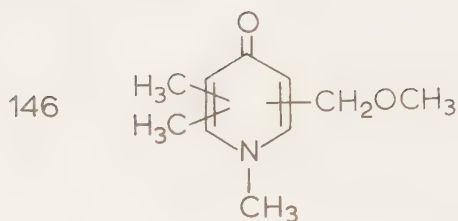
179(32), 136(25), 122(30),
108(100), 80(20), 53(24),
43(21), 42(18)



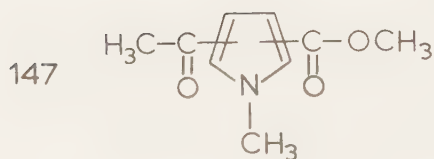
179(72), 164(14), 136(9),
108(100), 80(79), 53(39),
43(17)



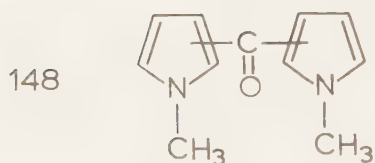
181(22), 139(13), 138(100),
110(24), 82(8), 69(37),
56(34), 55(22), 43(47)



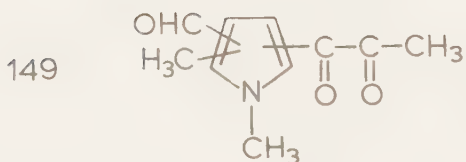
181(48), 166(30), 150(100),
110(81), 94(18), 82(16),
69(21), 55(29), 43(49)



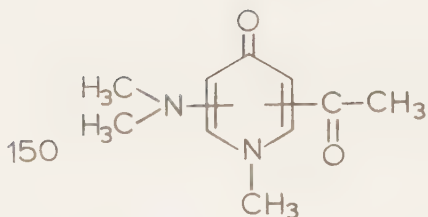
131(72), 166(100), 150(75),
136(8), 122(42), 108(51),
80(15), 53(28), 43(48)



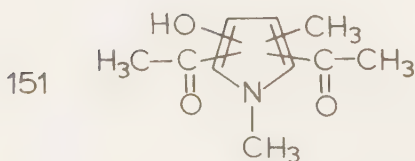
188(100), 108(72), 80(68),
53(37)



193(30), 165(15), 164(16),
150(29), 122(100), 94(21),
67(23), 53(24), 43(43)

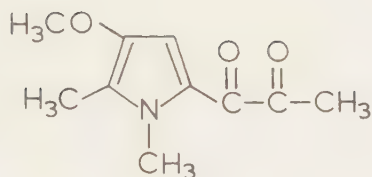


194(27), 179(100), 165(39),
149(12), 122(19), 110(32),
52(33), 56(13)



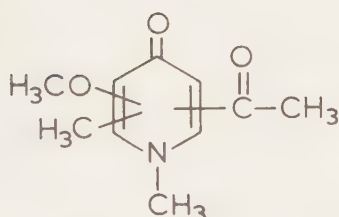
195(97), 180(100), 152(91),
135(70), 110(66), 94(55),
82(47), 69(36), 56(21)

152



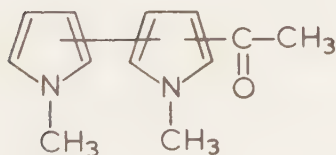
195(50), 180(13), 153(35),
152(100), 124(38), 109(41),
81(25), 56(34), 43(38)

153



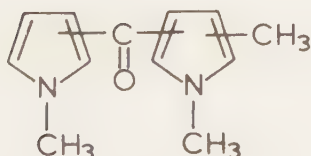
195(48), 180(100), 166(67),
153(39), 124(22), 110(17),
82(13), 69(25), 56(37)

154



202(100), 187(84), 159(32),
139(29), 122(53), 108(12),
80(27), 53(11), 43(24)

155



202(100), 122(79), 108(87),
94(54), 80(19), 67(31),
53(46)

156

204(100), 132(85), 109(33),
78(23), 55(17), 43(56)

157

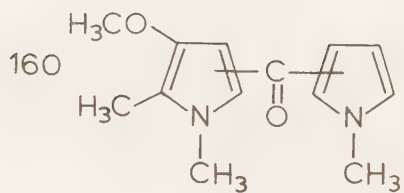
207(100), 192(85), 178(62),
133(37), 119(68), 101(33),

158

216(81), 201(100), 173(21),
150(90), 132(43), 101(17),
78(25), 55(61)

159

218(77), 138(100), 123(17),
99(28), 82(13), 55(76)



232(47), 152(100), 124(31),
109(31), 81(19), 66(27),
56(31), 55(23)

Es zeigt sich, daß bei Glykolaldehyd/Methylammoniumtartrat Bräunungsansätzen charakteristische flüchtige Zuckerumwandlungsprodukte entstehen, die man auch bei analogen Umsetzungen von Glucose mit Methylammoniumsalzen findet^{8,34,35}).

Die Pyrrol-, Furan- und Dihydropyran-derivate bestehen aus C4-, C5-, C6- bzw. C7-Körpern. Die C2-Einheit Glykolaldehyd kann durch Aldoladditionen zu geradzahligen Zuckerderivaten reagieren. Die ungeradzahligen Komponenten entstehen durch anschließende Retroaldolspaltungen. Andererseits kann Glykolaldehyd auch aus Zuckern durch Retroaldolspaltung unter den Bedingungen der Maillard-Reaktion gebildet werden.

4.2. Bräunungsreaktionen von Glycerinaldehyd mit Methylammoniumtartrat

Glycerinaldehyd ist ein wichtiges Abbauprodukt der Zucker und nach Enders⁵³) ist sein Melanoidinbildungsvermögen größer als das der Zucker. Glycerinaldehyd wurde mit Methylammoniumtartrat im Molverhältnis 2:1 in wässriger Lösung 15 min. zum Sieden erhitzt. Die schwarzbraune Reaktionsmischung extrahierte ich 12 Stunden im Perkulator mit Methylenchlorid. Der vom Lösungsmittel befreite Extrakt wurde auf präparativen Kieselgelplatten vorgetrennt. Auf den mit Benzol/Äthylacetat (1+1) entwickelten Platten zeigten sich unter UV-Licht ($\lambda = 254\text{nm}$) fünf fluoreszenzlöschende Zonen: Zone A1 um $rf = 0,75-0,85$, Zone A2 um $rf = 0,70$, Zone A3 um $rf = 0,45-0,60$, Zone A4 um $rf = 0,25-0,45$ und Zone A5 um $rf = 0,0$. Die einzelnen Zonen wurden abgetrennt,

eluiert und im Hochvakuum bei 0,1 Torr bis 190° destilliert. Die Fraktionen A1, A3 und A4, die als gelbe Öle anfielen, untersuchte ich im GC-MS-System. Die Gaschromatogramme sind nachstehend abgebildet (Abb.13, 14 und 15).

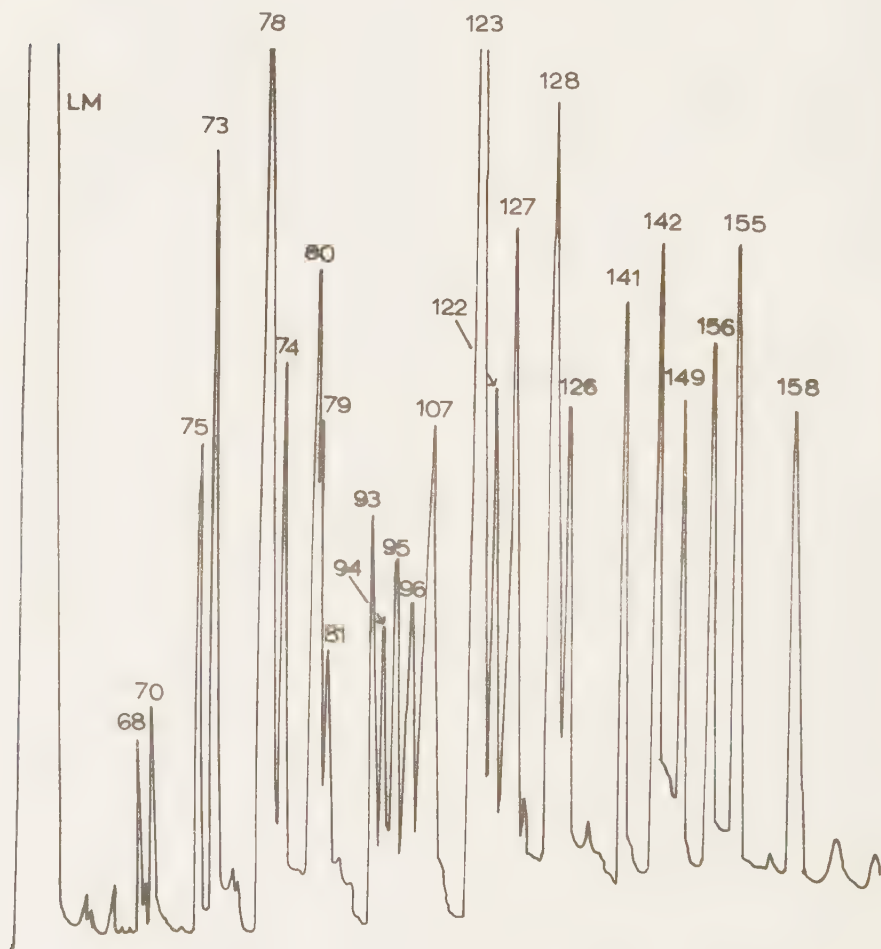


Abb.13: GC von Fraktion A1

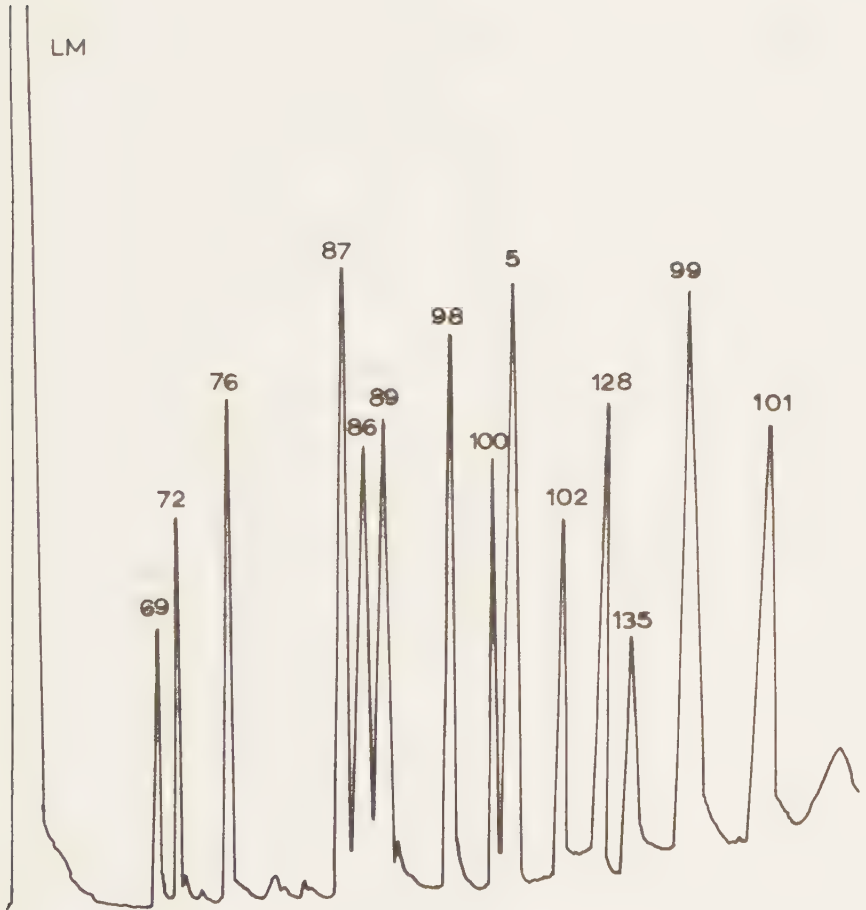
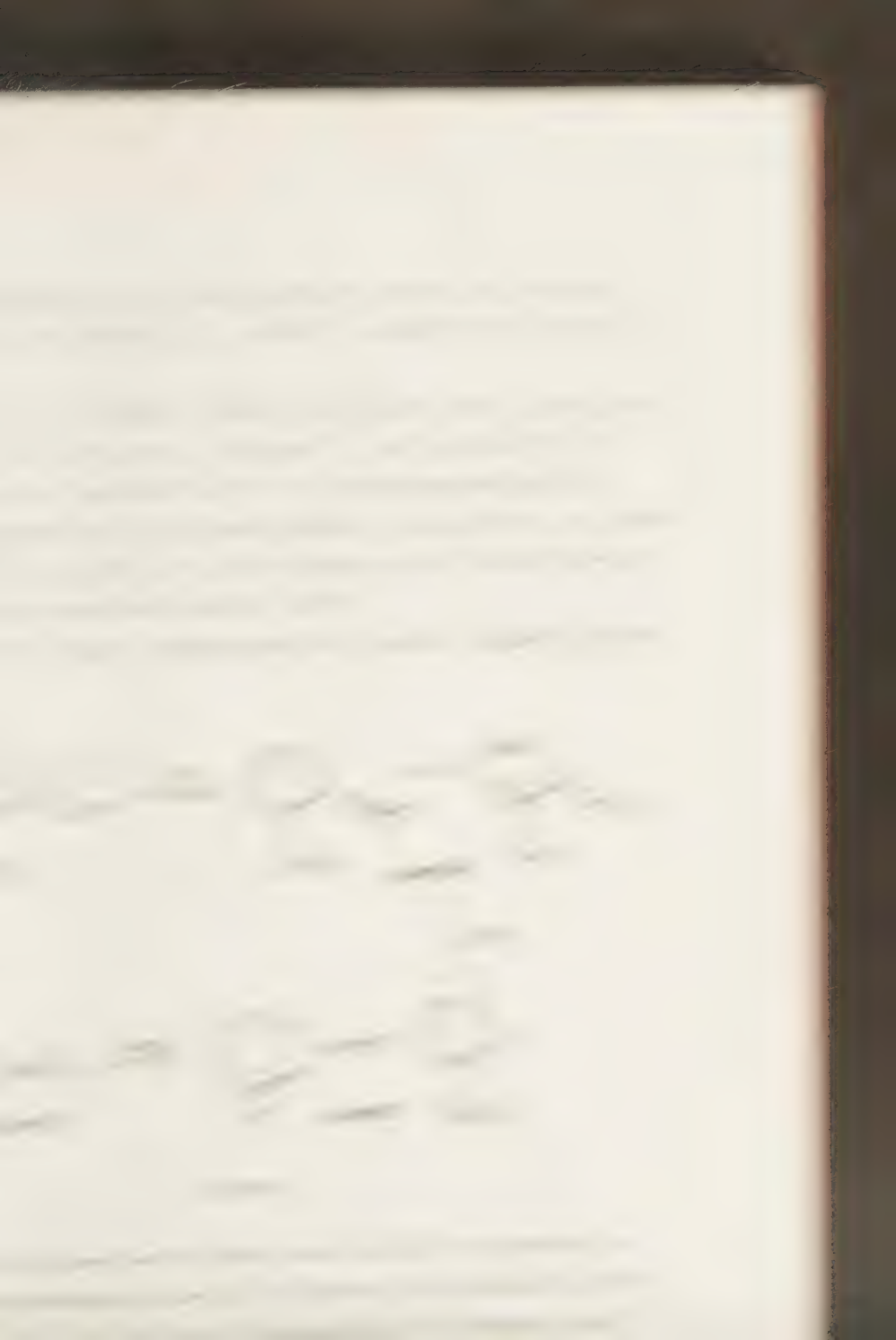


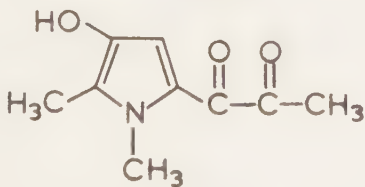
Abb.14: GC von Fraktion A3





befindet sich die C-Methylgruppe in α -Stellung am Pyrrolring. In der Fraktion A3 findet man charakteristische Zuckerumwandlungsprodukte wieder: 2,3-Dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (5), das W. Seilmeier³⁴⁾ nach Umsetzung von Glucose mit Alkylammoniumsalzen isolierte, sowie 2-Formyl-5-hydroxymethyl-1-methyl-pyrrol (101)⁸⁾, 1,2-Dimethyl-5-formyl-3-hydroxypyrrol (99)⁹⁾ und 2-Methyl-5-methylamino-4H-pyran-4-on (98)¹⁰⁾.

Aus der Zone A2 konnten durch Sublimation im Hochvakuum (0,1 Torr) rotorange Kristalle erhalten werden. Auf Grund der Spektren wurde die Verbindung als 1,2-Dimethyl-5-(1,2-dioxoprop-1-yl)-3-hydroxypyrrol (145) identifiziert.



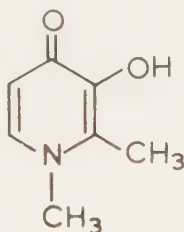
145

Durch Spektrenvergleich konnte festgestellt werden, daß es sich bei 145 um dieselbe Verbindung handelt, die U. Krönig⁵⁴⁾ nach Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumacetat isolierte. Verbindung 145 stellt das erste farbige Hexose-Umwandlungsprodukt dar, das identifiziert werden konnte.

Die Auftragzone A5 der Platte wurde nach Eluieren vom Kieselgel erneut einer dickschichtchromatographischen Trennung im polaren Fließmittel n-Butanol/Methanol/Wasser (4+2+1) unterworfen. Unter

UV-Licht ($\lambda = 254\text{nm}$) waren drei fluoreszenzlöschende Zonen sichtbar.

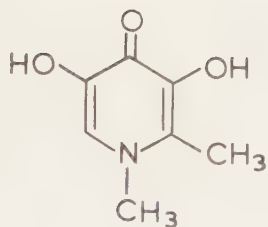
Aus der Zone um rf 0,5 konnten farblose Kristalle isoliert werden, die an Hand der Spektren als 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-4-pyridon (161) identifiziert wurden.



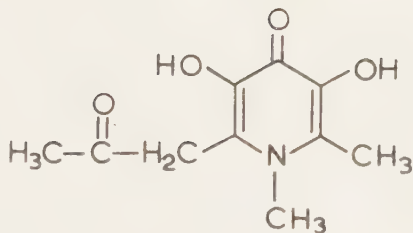
161

Th. Severin und A. Loidl¹¹⁾ isolierten dieses Pyridon aus Bräunungsansätzen von Maltose bzw. Lactose mit Methylammonium-acetat.

Die Zonen um rf 0,3 und rf 0,1 enthielten jeweils eine kristalline Substanz, deren Reinigung durch Sublimation im Hochvakuum gelang. Die Strukturen ergaben sich aus den Spektren mit 3,5-Dihydroxy-1,2-dimethyl-4-pyridon (162) (rf 0,3) und 3,5-Dihydroxy-1,2-dimethyl-6-(2-oxoprop-1-yl)-4-pyridon (163) (rf 0,1). Beide Verbindungen sind in der Literatur noch nicht beschrieben.

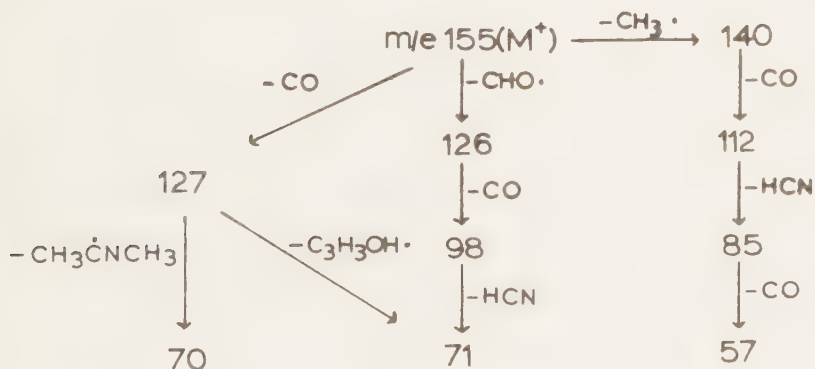


162



163

Bei Verbindung 162 zeigt der Molekülpeak des Massenspektrums das Molekulargewicht 155 an. Der massenspektrometrische Zerfall ist im Schema 11 wiedergegeben.



Schema 11

Das IR-Spektrum von 162 mit einer breiten OH-Bande ($3300 - 2600 \text{ cm}^{-1}$) mit einem Maximum bei 3050 cm^{-1} bestätigt das Vorliegen von Hydroxylgruppen. Sehr charakteristisch sind die ausgeprägten Banden bei 1630 , 1550 und 1510 cm^{-1} . Ähnliche Lagen der Absorptionsbanden findet man bei anderen Verbindungen

dieses Strukturtyps⁵⁵⁾.

Im NMR-Spektrum (Abb.16) zeigen zwei Singulettts bei τ 7,60 und τ 6,18 die C-Methylgruppe bzw. die N-Methylgruppe an. Ähnliche Signallagen findet man bei Verbindung 161. Das Singulett des ringständigen Protons bei tiefem Feld (τ 2,31) spricht für ein zur Carbonylfunktion β -ständiges Proton.

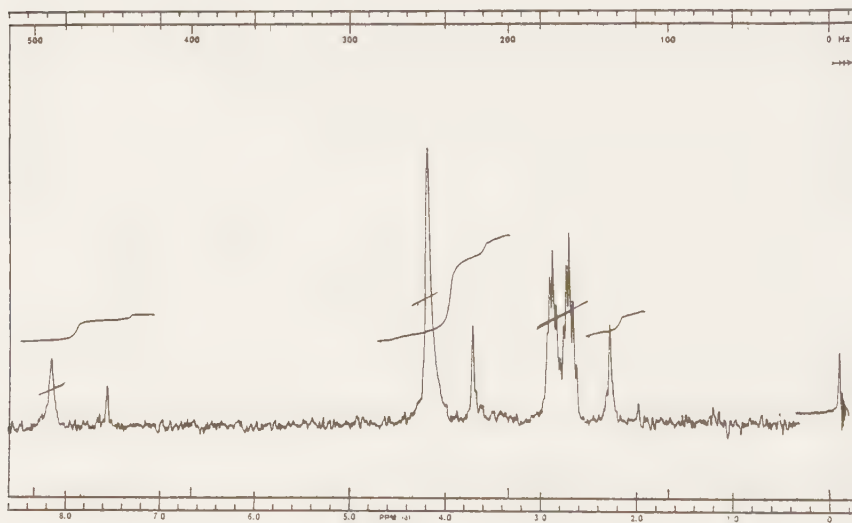
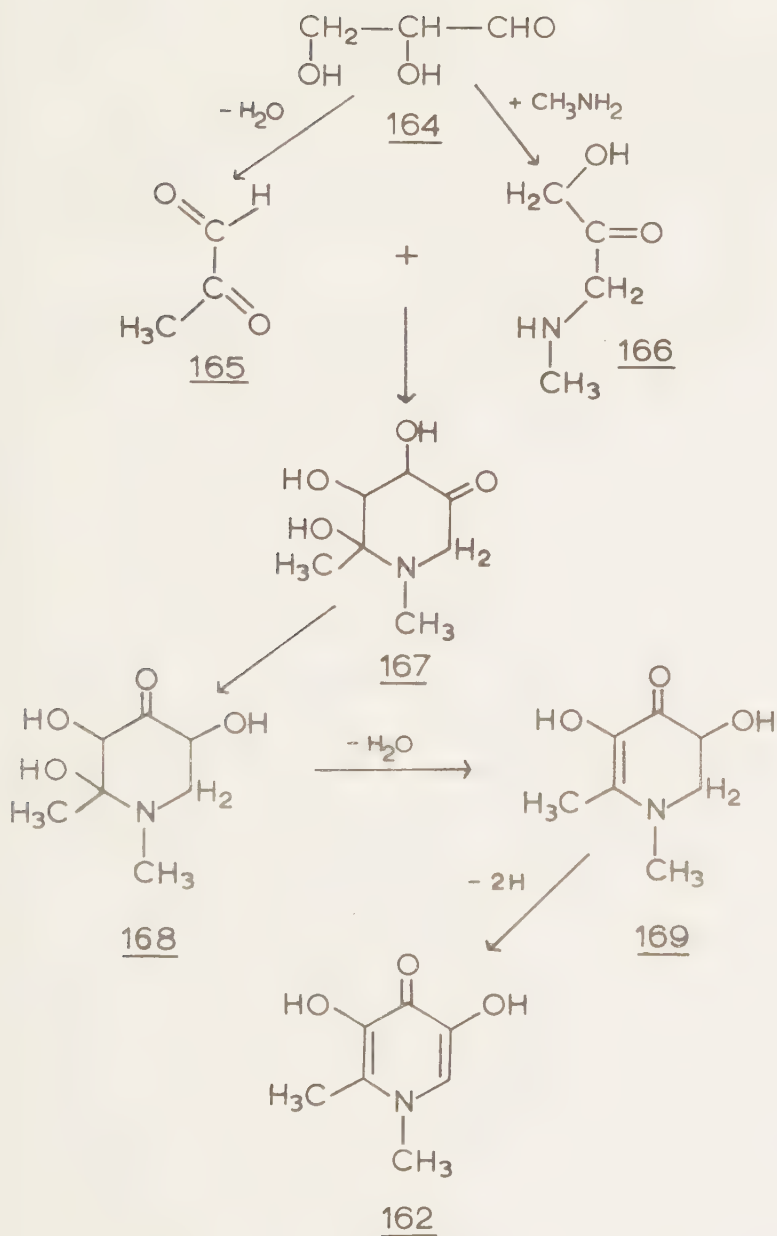


Abb.16: NMR-Spektrum von 162 in d_7 -DMF⁷⁸⁾

Verbindung 162 besitzt im UV-Spektrum Maxima bei 220 nm ($\log \epsilon = 4,41$) und bei 293 nm ($\log \epsilon = 4,02$); diese Daten stehen in Einklang mit den von A. Loidl⁵⁶⁾ für Verbindung 161 angegebenen Werten.



Schema 12

Das 4-Pyridon 162 weist strukturelle Ähnlichkeiten mit dem bekannten Hexoseumwandlungsprodukt 3,5-Dihydroxy-6-methyl-4H-pyran-4-on (10) auf. Es ist noch zu untersuchen, ob das Pyridon 162 durch Methylamin-Einbau in 10 gebildet wird. Eine Bildungsmöglichkeit von 162 aus Glycerinaldehyd und Methylamin ist im Schema 12 skizziert.

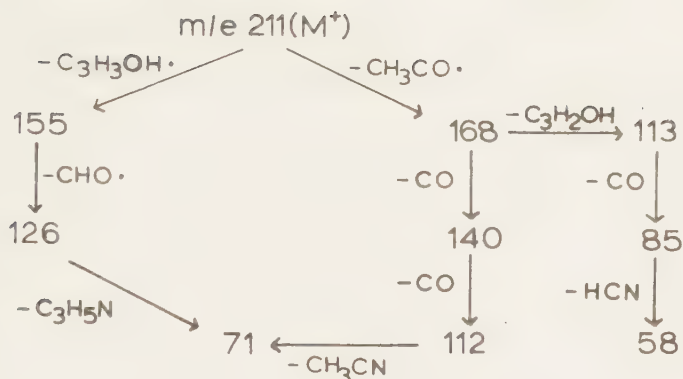
Die Reaktion von Methylglyoxal (165) - durch Wasserabspaltung aus Glycerinaldehyd (164) entstanden - mit 1-Hydroxy-3-methylamino-aceton (166), das über mehrere Zwischenstufen aus Glycerinaldehyd und Methylamin gebildet wird, führt zum Dihydro-4-pyridon 169. Ein anschließender Dehydrierungsschritt läßt das 4-Pyridon 162 entstehen.

Verbindung 163 fiel nur in sehr geringer Menge an; die vorliegenden Informationen aus den MS-, IR- und UV-Spektren lassen auf 3,5-Dihydroxy-1,2-dimethyl-6-(2-oxoprop-1-yl)-4-pyridon schließen.

Im IR-Spektrum finden sich die charakteristischen Banden der Hydroxy-4-pyridone 161 und 162 wieder. Die Schwingungsbande bei 1710 cm^{-1} ist einer aliphatischen Ketogruppe zuzuordnen, die nicht in Konjugation zu einem Doppelbindungssystem steht.

Die UV-Absorption von 163 stimmt nahezu überein mit den vorher genannten Vergleichssubstanzen; der Acetylsubstituent kann den Chromophor nicht vergrößern.

Die Fragmentierung im Massenspektrum ist sehr aufschlußreich (Schema 13).



Schema 13

Die wichtigste Primärfragmentierung ($M^+ - 43$) führt unter Verlust von CH_3CO zum Bruchstück mit der höchsten Intensität m/e 168. Die nachfolgenden Abspaltungen verlaufen analog dem massenspektrometrischen Zerfall des diskutierten 4-Pyridons 162. Diese Informationen lassen darauf schließen, daß es sich bei Substanz 163 um das C-Acetyllderivat von 162 handelt. Der C9-Körper 163 könnte aus der Reaktion von 2 Mol Methylglyoxal (165) mit 1 Mol Dihydroxyaceton (170) und 1 Mol Methylamin hervorgegangen sein (Schema 14). Die beiden Substanzen sind als in Bräunungsgemischen vorkommende Zuckerumwandlungsprodukte längst bekannt⁵⁷⁻⁵⁹).

Methylglyoxal (165) und Dihydroxyaceton (170) reagieren in einer Aldolkondensation zu Verbindung 171, die zur Triketoverbindung 172 tautomerisiert. Erneute Aldolreaktion mit Methylglyoxal und Ringschluß unter Methylamin-Einbau ergeben nach Wasserabspaltung das 4-Pyridon 163.

4.3. Bräunungsreaktionen von Erythrose mit Methyl- ammoniumtartrat

Diese Untersuchungen sollten klären, ob Tetrosen bei Maillard-Reaktionen eine ähnliche Rolle spielen wie Glucose oder die C3-Körper Glycerinaldehyd und Dihydroxyaceton.

L-Erythrose wurde mit äquimolaren Mengen Methylammoniumtartrat in wässriger Lösung 30 min. zum Sieden erhitzt. Die mit Methylenchlorid extrahierbaren Anteile des Bräunungsgemisches destillierte ich bei 0,1 Torr bis 200°. Das gelbe, teils ölige, teils kristalline Destillat wurde auf präparativen Kieselgelplatten im Fließmittel Methylenchlorid/Acetonitril (7+3) vorge trennt. Vier unter UV-Licht ($\lambda = 254\text{nm}$) fluoreszenzlöschende Zonen wurden eluiert. Die jeweiligen Fraktionen B1, B2, B3, B4 unterwarf ich der GC-MS-Analyse. Die Gaschromatogramme sind nachstehend abgebildet (Abb. 17, 18, 19 und 20).

Die durch ihre Massenspektren identifizierten Substanzen sind aus Tabelle 3 zu entnehmen.

Auch bei der Bräunungsreaktion von Erythrose mit Methylammoniumtartrat findet man flüchtige Maillard-Produkte, wie Pyrrol-, Furan-, Pyron- und Pyridonderivate, die aus analogen Umsetzungen von Glucose bzw. Triosen bekannt sind^{6,8,9,10,35}).

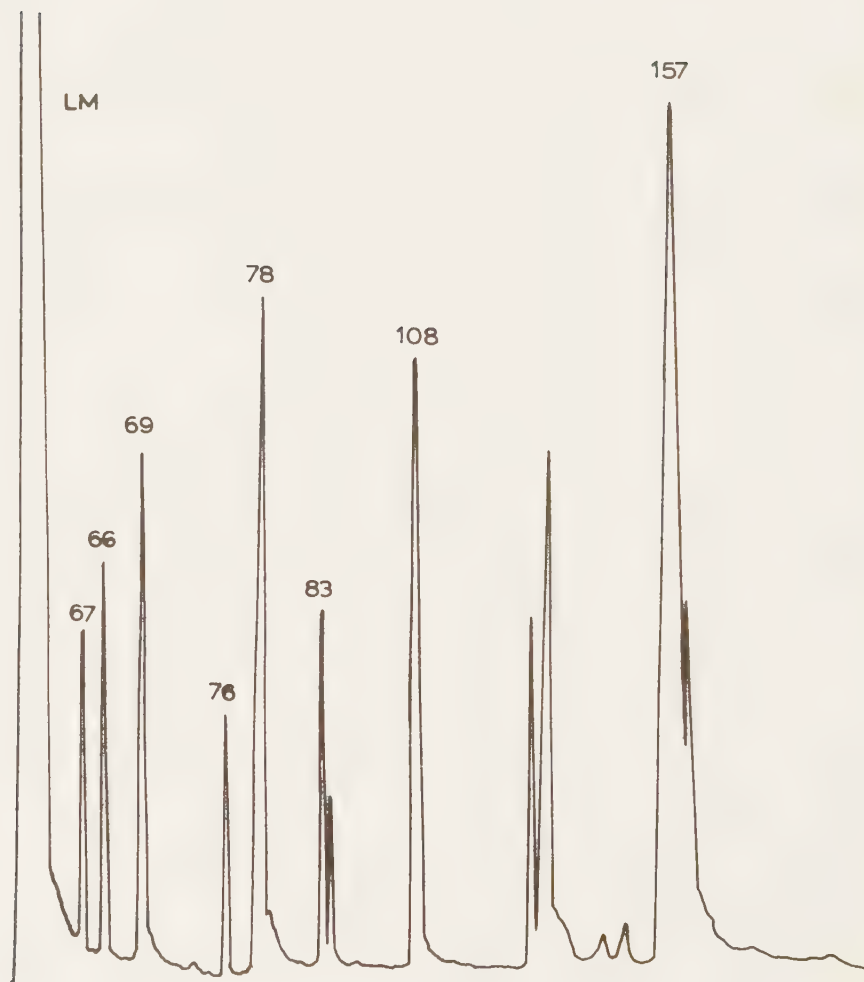


Abb.17: GC von Fraktion B1



Abb.18: GC von Fraktion B2



Abb.19: GC von Fraktion B3



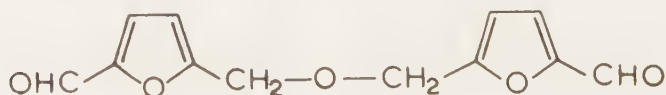
Abb.20: GC von Fraktion B4

4.4. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Methylammoniumtartrat

Mehrere Arbeitskreise haben die aus Umsetzungen von Hexosen mit Aminkomponenten erhaltenen Bräunungsgemische analysiert. Dabei wurden durch Anwendung des GC-MS-Systems in erster Linie niedermolekulare, flüchtige Verbindungen gefunden^{6,8,10,34,54}). Mein Ziel war es, die Palette der bisher bekannten Produkte dieser Bräunungsreaktion zu erweitern.

Den Methylenchlorid-Extrakt aus wässrigen Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungsgemischen trennte ich dickschichtchromatographisch vor. Durch Einteilen der Kieselgelplatten in sieben Zonen erhielt man Fraktionen, die im GC-MS-System untersucht wurden. Die Massenspektren einiger Komponenten wiesen auf bisher nicht bekannte Verbindungen hin. Zur Strukturbestimmung wurden diese Substanzen durch GC-Splitting gesammelt und - soweit mengenmäßig möglich - ihre NMR- und IR-Spektren gemessen.

Eine hellgelbe, kristalline Substanz konnte an Hand der Spektren als Di-furfural-2-methyläther (175) identifiziert werden.



175

Im MS-Spektrum zeigt der Molekül-Peak das Molekulargewicht 234 an. Das Molekülion zerfällt durch C,O-Spaltung in der Weise, daß das stabile Furfuralmethyl-Carboniumion (m/e 109)

entsteht, d.h. das Alkoxyfragment wird als ungeladenes Radikal abgespalten. Dies ist verständlich, da in einem positiven Alkoxy-Ion der Sauerstoff ein relativ ungünstiges Elektronensextett aufweist. Im IR-Spektrum treten mit Ausnahme der O-H-Valenzschwingungsbande ähnliche Banden auf wie beim Hydroxymethylfurfural.

Das NMR-Spektrum entspricht der symmetrischen Struktur:

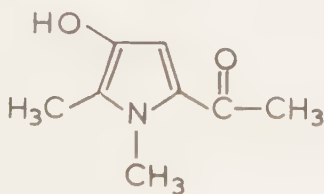
Die Aldehyd-H-Atome erkennt man durch ein Singulett bei τ 0,75.

Die Ringprotonen erscheinen als zwei Dubletts bei τ 2,60 und τ 3,22 mit der Kopplungskonstante $J=3,0\text{Hz}$. Für Hydroxymethylfurfural findet man fast dieselben Protonenresonanzlagen.

Di-furfural-2-methyläther (175) wurde nach Pyrolyse von Stärke, Saccharose, Glucose und Fructose nachgewiesen^{60,61}; außerdem fand man 175 beim säurekatalysierten Abbau von Hexosen⁶²).

Seine Bildung kann durch Wasserabspaltung aus 2 Mol Hydroxymethylfurfural, einem häufig anzutreffenden Hexose-Umwandlungsprodukt, erklärt werden.

Die Struktur einer weiteren durch GC-Splitting isolierten Substanz ergibt sich aus den Spektren als 5-Acetyl-1,2-dimethyl-3-hydroxy-pyrrol (176).



176

Im Massenspektrum ist die Primärfragmentierung die Abspaltung von CH_3 aus dem Molekülion ($\text{M}^+ 153$) zum Basispeak m/e 138.

Carbonylabspaltung $\text{M}^+ - (15+28)$ führt zum Fragment m/e 110, aus dem CO sowie CH_3CN eliminiert werden zu den Bruchstücken m/e 82 und m/e 69. Diese Fragmente sind zusammen mit m/e 56 charakteristisch für 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-pyrrole.

Im IR-Spektrum weist eine breite Bande von 3400 cm^{-1} bis 2500 cm^{-1} auf eine Hydroxylgruppe hin. Eine intensive Bande bei 1620 cm^{-1} ist der CO-Schwingung der Acetylgruppe zuzuordnen.

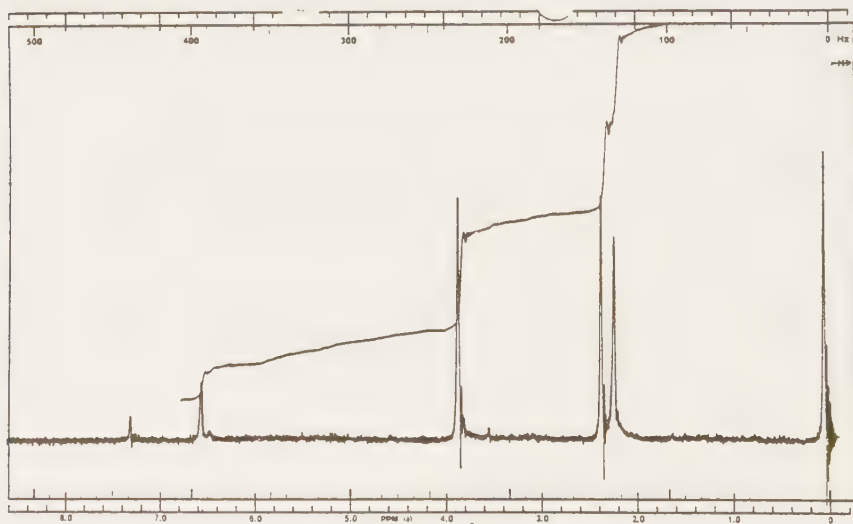


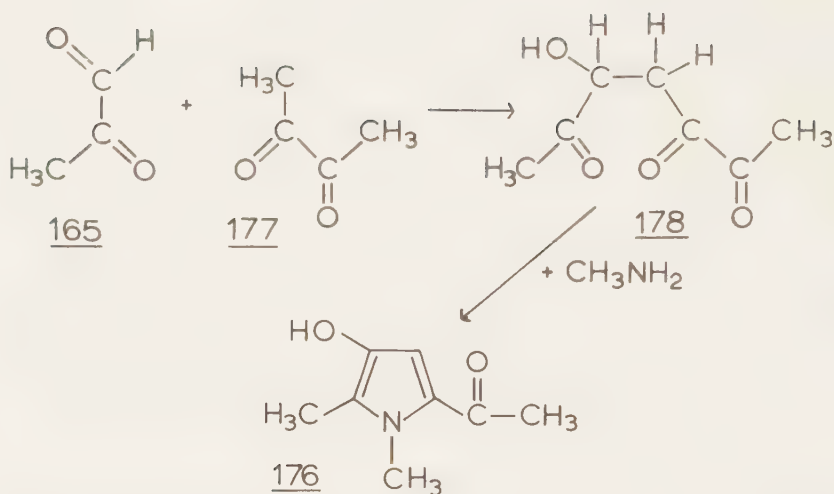
Abb.21: NMR-Spektrum von 176 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Das NMR-Spektrum (Abb.21) zeigt drei Methylgruppen als Singulets bei τ 7,83, τ 7,65 und τ 6,14. Sie entsprechen der Methylgruppe am α -C-Atom des Pyrrolrings, der Acetyl- und der N-Methylgruppe. Das Ringproton wird durch ein Signal bei τ 3,48 angezeigt.

Eine Substanz mit identischen spektralen Daten isolierte U. Krönig⁵⁴⁾ aus einem Glucose/Methylammoniumacetat Bräunungsgemisch. Er konnte jedoch die Stellung der Substituenten an den C-Atomen des Pyrrolrings nicht exakt zuordnen. Der massenspektrometrische Zerfall im unteren Bereich und die Protonenresonanzen des α -Methylsubstituenten (τ 7,78), der N-Methylgruppe (τ 6,14) und des Ringprotons (τ 3,54) von 1,2-Dimethyl-5-formyl-3-hydroxy-pyrrol (99)⁹⁾ stimmen nahezu überein mit den entsprechenden Daten von 176. Nachdem die Struktur von 99 nun eindeutig festgelegt war⁶³⁾, darf man die für 176 angegebene Struktur als gesichert betrachten.

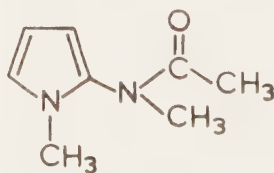
Die Stellung der Substituenten kann auch aus einem einfachen Bildungsmechanismus abgeleitet werden (Schema 15).

Das 1,4-Diketon 178 aus der Aldoladdition von Diacetyl (177) und Methylglyoxal (165) reagiert mit Methylamin unter Ring-schluß zu 176. Diacetyl sowie Methylglyoxal wurden als Zuckerabbauprodukte nachgewiesen⁵⁹⁾.



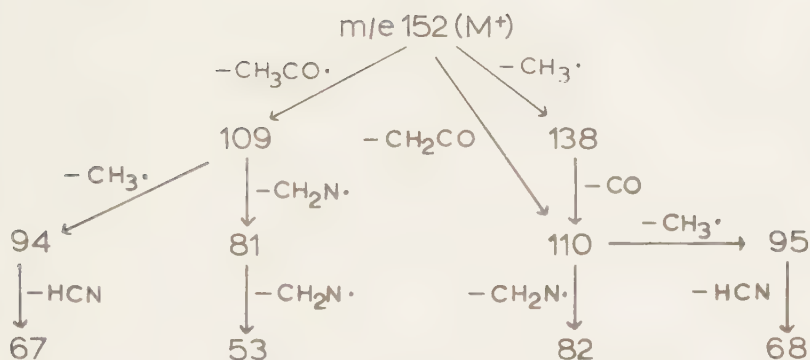
Schema 15

Eine weitere Substanz fiel beim GC-Splitting in Form eines farblosen Öls an. Die vorliegenden Informationen aus den Spektren lassen auf 2-(N-Acetyl-methylamino)-1-methylpyrrol (111) schließen.



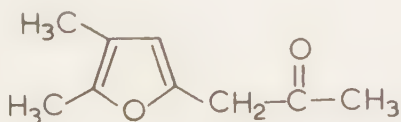
111

Die Summenformel ergibt sich aus dem hochauflösenden Massenspektrum zu $\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}$. Zur Strukturermittlung sind dem Massenspektrum wichtige Hinweise zu entnehmen (Schema 16).



Schema 16

Die hervortretenden Primärfragmentierungen sind die Abspaltungen von CH₃CO und CH₂=C=O aus dem Molekilion (M⁺ 152) zu den Bruchstücken m/e 110 und m/e 109. Die folgenden Sekundärabspaltungen, der Verlust von CH₂N, führen zu den Fragmenten m/e 82 und m/e 81. Der Charakter des Massenspektrum im unteren Bereich ist von den Bruchstücken m/e 68, 67, 56, 55, 43, 42 und 39 gekennzeichnet, die Fragmente des Pyrrolzerfalls sind. Gerade der Peak m/e 43 bestätigt die Anwesenheit einer Acetylgruppe. Der massenspektrometrische Zerfall von 111 zeigt eine auffallende Ähnlichkeit mit dem von 2-Acetonyl-4,5-dimethyl-furan (179).



Dieser Strukturvorschlag kann jedoch auf Grund der Elementarzusammensetzung und der IR- und NMR-Spektren nicht in Frage kommen. Im IR-Spektrum zeigt sich die Säureamid-Carbonyl-Schwingungsbande bei 1635 cm^{-1} . Scharfe Banden bei 1590 , 1565 und 1510 cm^{-1} dürften dem Pyrrolgerüst zuzuschreiben sein.

Das NMR-Spektrum steht in Einklang mit der angenommenen Struktur (Abb.22).

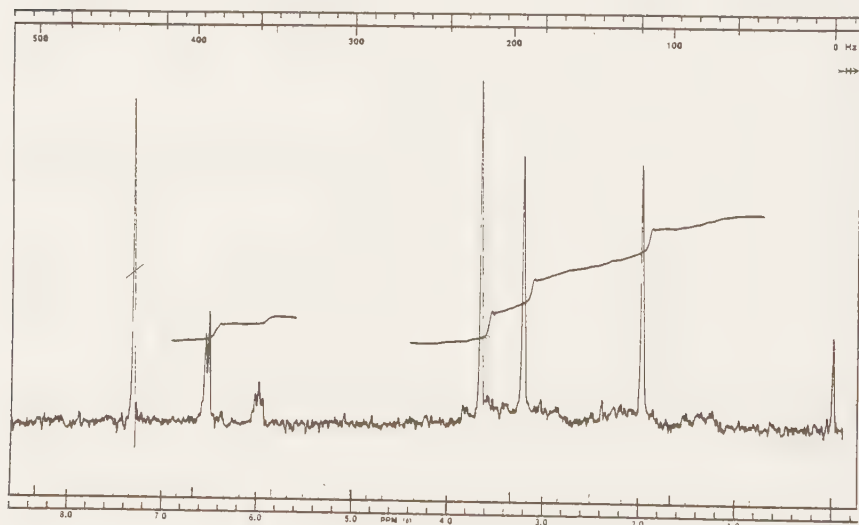
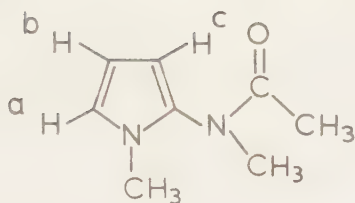


Abb.22: NMR-Spektrum von 111 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

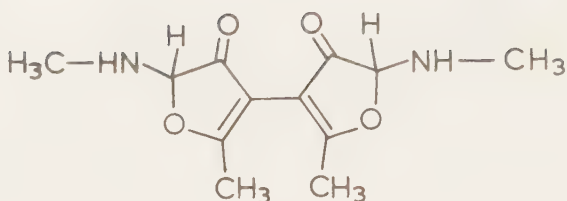
Drei Singulettts bei $\tau\ 8,00$, $\tau\ 6,78$ und $\tau\ 6,33$ zeigen drei Methylgruppen an. Sie sind der Acetylgruppe, der Säureamid-N-Methylgruppe und der Methylgruppe des Ringstickstoffs zuzuordnen.



Im unsubstituierten Pyrrol sind die α -ständigen Protonen durch das N-Atom entschirmt und ihr Signal liegt bei tieferem Feld als das der Protonen in β -Stellung.

Im Pyrrolderivat 111 erfährt das Proton H^c infolge der Anisotropie der Carbonylgruppe eine Schwächung seiner Abschirmung und weist "zufällig" dieselbe chemische Verschiebung auf wie H^a . Das freie Elektronenpaar des N-Atoms der Säureamidgruppe, das in Konjugation zur Carbonylfunktion steht, hat keinen wesentlichen Einfluß auf das π -Elektronensystem des Pyrrolrings und damit auf die chemische Verschiebung der Ringprotonen. Durch Spin-Spin-Kopplung mit den isochronen H^a und H^c ist H^b zu einem Triplett bei τ 4,00 mit der für Pyrrole charakteristischen Kopplungskonstante $J=2\text{Hz}$ aufgespalten. H^a und H^c ergeben ein gemeinsames Dublett bei τ 3,45. Die Resonanzlagen der Ringprotonen und ihre Aufspaltung machen die α -Stellung des Substituenten plausibel. Ein β -ständiger Substituent würde seinen Anisotropieeffekt auf die zwei vicinalen Protonen ausüben und andere Signallagen und ein komplizierteres Aufspaltungsmuster bewirken.

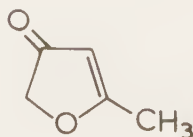
Für eine kristalline Verbindung, die durch GC-Splitting isoliert wurde, schlage ich auf Grund der Spektren folgende Struktur vor: Bi-2,3-dihydro-5-methyl-2-methylamino-furan-3-on-4-yl (180).



180

Im Massenspektrum von 180 stellt das Ion mit der höchsten Masse (m/e 126) nicht das Molekülion dar. Das Molekulargewicht konnte ich jedoch aus dem metastabilen Peak bei m/e 63,3 berechnen, der den einstufigen Zerfallsprozeß m/e 252 (M^+) $\rightarrow$ m/e 126 dokumentiert. Diese Fragmentierung deutet auf eine symmetrische Struktur hin. Das Bruchstück m/e 126 zerfällt unter Verlust von CO bzw. CH_2NH zu m/e 98 bzw. m/e 97. Beim weiteren Abbau treten die Signale m/e 67, 66, 55 und 43 auf. Eine Elementaranalyse konnte wegen der geringen verfügbaren Substanzmenge nicht angefertigt werden.

Im IR-Spektrum ist eine sekundäre Aminogruppe ($-NH-CH_3$) bei 3300 cm^{-1} zu finden. Für die Zuordnung von Banden bei 1690 cm^{-1} und 1590 cm^{-1} zu einer Ketocarbonylgruppe bzw. zu einer konjugierten Enoläther-Doppelbindung gibt es genügend Beispiele. Bei Verbindungen ähnlicher Struktur, wie 5-Methyl-2,3-dihydrofuran-3-on (181), sind die entsprechenden Banden bei 1705 cm^{-1} und 1605 cm^{-1} angegeben⁶⁴⁾.



181

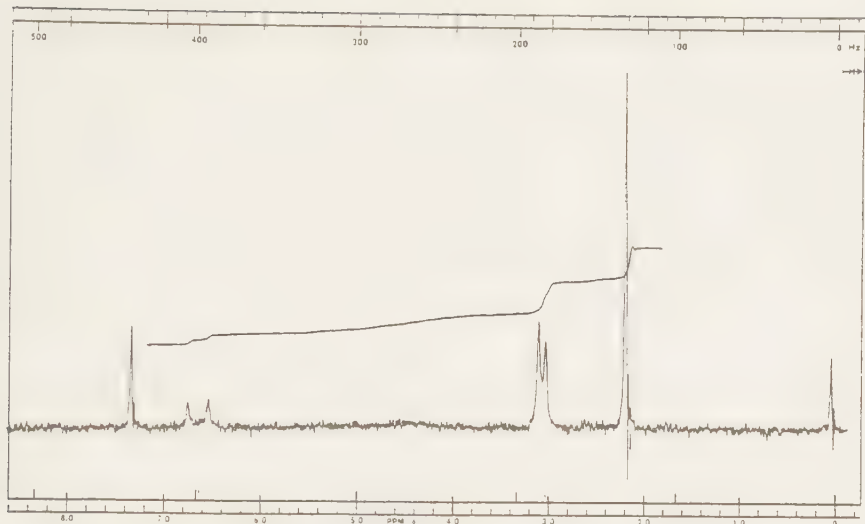


Abb.23: NMR-Spektrum von 180 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

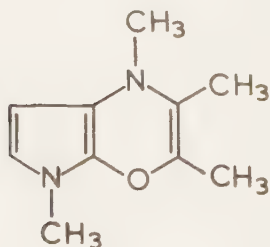
Im NMR-Spektrum (Abb.23) zeigt sich die symmetrische Struktur von 180. Das Singulett bei τ 7,83 zeigt die zwei C-Methylgruppen. Durch Kopplung mit dem H-Atom des Aminstickstoffs sind die Signale der N-Methylprotonen und der Methinprotonen zu Dubletts bei τ 6,97 ($J=4,5$ Hz) und τ 3,36 ($J=13$ Hz) aufgespalten. Nach H-D-Austausch erscheinen beide Signale als Singuletts. Die Signallage der Methinprotonen bei tiefem Feld (τ 3,36) ist durch die Entschirmung von drei benachbarten elektronenziehenden Gruppen bedingt.

Die Informationen aus den Spektren machen obige Struktur plausibel. Allerdings wäre die beschriebene Substanz, die sich formal aus zwei C5-Körpern ableitet, eher in Pentose/Methyl-

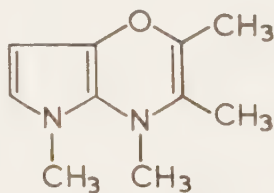
ammoniumtartrat Bräunungsgemischen zu erwarten als bei der Umsetzung von Glucose mit Methylammoniumtartrat. Die Bildung von C5-Zuckerumwandlungsprodukten bei Hitzeeinwirkung auf Hexosen ist bekannt⁶⁵⁾. Außerdem können durch Retroaldolreaktion aus Hexosen reaktive Bruchstücke gebildet werden, die miteinander durch Aldolreaktionen zu C5-Körpern rekombinieren. Erstaunlich ist jedoch die Dimerisierung.

Für eine weitere nur in geringer Menge anfallende Substanz konnte ich zwei Strukturvorschläge machen:

1,2,3,5-Tetramethyl-pyrrolo[2,3-b]-1,4-oxazin (182) oder
2,3,4,5-Tetramethyl-pyrrolo[3,2-b]-1,4-oxazin (183).



182



183

Im Massenspektrum zeigt der Molekülpeak das Molekulargewicht 178 an. Die wichtigsten Fragmentierungen äußern sich in den Verlusten eines Methyl-Radikals bzw. von C_4H_5O . Die Anwesenheit eines nicht C-alkylierten Pyrrolrings äußert sich in den charakteristischen Bruchstücken m/e 80 und m/e 53.

Das IR-Spektrum zeigt Banden bei 1555, 1520, 1480 cm^{-1} , die

den Gerüstschwingungen der kondensierten Ringe zuzuschreiben sind.

Aufschlußreichere Informationen bietet das NMR-Spektrum (Abb.24). Die zwei Singulets bei τ 8,65 und τ 8,31 dürften den Protonen der Methylgruppen am Oxazinring zuzuordnen sein. Der Einfluß zweier Heteroatome im Ring sollte für die diamagnetischen Verschiebungen verantwortlich sein; die Signale der Protonen von C-Methylsubstituenten an einem Pyrrolring liegen im allgemeinen unter τ 8,00. Die N-Methylgruppe des Oxazinrings absorbiert bei τ 7,08, während die Lage des Singulets bei τ 6,23 typisch ist für die N-Methylgruppe eines Pyrrols. Die beiden vicinalen Protonen am Pyrrolring erscheinen als zwei Dubletts bei τ 4,50 und τ 3,07.

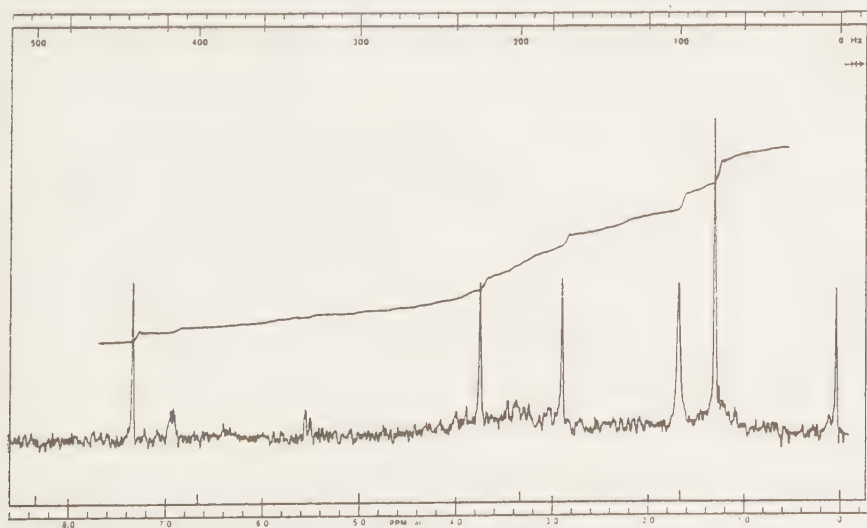


Abb.24: NMR-Spektrum von 182/183 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Die vorliegenden Informationen erlauben jedoch keine Entscheidung für eine der beiden Isomeren 182 oder 183. Weitere Untersuchungen wurden wegen der geringen Ausbeute zunächst ausgesetzt.

4.4.2. Methylierung von Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungsgemischen

Mittels GC-MS-Analyse konnten aus Bräunungsgemischen viele flüchtige, niedermolekulare Verbindungen identifiziert werden. Der Methylenchlorid-Extrakt der Bräunungsgemische enthält jedoch noch viele schwerflüchtige Substanzen, die sich gaschromatographisch nicht mehr erfassen lassen, da sie polare Hydroxyl- und Aminofunktionen aufweisen bzw. zu hochmolekular sind. Eine Derivatisierung der polaren Gruppen durch Methylierung sollte diese Bräunungsprodukte lipophiler, besser chromatographierbar und flüchtiger machen.

Wünschenswert ist eine einfache und möglichst quantitativ verlaufende Methylierungsmethode. Weder die Kombinationen NaH/Methyljodid und BF_3 /Diazomethan noch der reaktive Fluorsulfonsäuremethylester ("magic methyl") brachten befriedigende Resultate. Die durch Umsetzung mit Thallium(I)-äthylat erhältlichen Thallium(I)-alkoholate lassen sich hervorragend mit Methyljodid alkylieren⁶⁶⁾. Diese Methode zeichnet sich durch hohe Ausbeuten, einfache Handhabung und schonenden Reaktionsablauf aus.

Den auf diese Weise methylierten Methylenchlorid-Extrakt des

Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungsgemisches trennte ich auf präparativen Kieselgelplatten im Fließmittel Benzol/Äthylacetat (5+1) auf. Durch Elution von drei unter UV-Licht fluoreszenzlöschenden Zonen wurden die Fraktionen C1, C2 und C3 erhalten, die ich im GC-MS-System untersuchte. Die nachstehenden Abbildungen 25, 26 und 27 zeigen die Gaschromatogramme der drei Fraktionen. Die durch Interpretation ihrer Massenspektren identifizierten Verbindungen sind der Tabelle 3 zu entnehmen. Einzelne Substanzen wurden mittels GC-Splitting gesammelt und ihre Strukturen durch Messung und Interpretation der NMR- und IR-Spektren zusätzlich gestützt.

Wie erwartet treten viele in Bräunungsgemischen nachgewiesene Verbindungen in methylierter Form wieder auf. Darüber hinaus ermöglicht es die Derivatisierung, bisher nicht beschriebene Substanzen zu erfassen und durch ihre Massenspektren zu charakterisieren.

Leider wurden trotz Methylierung viele höhermolekularen Bräunungsprodukte nicht genügend flüchtig, um einer GC-MS-Analyse zugänglich zu werden. Von Vorteil ist eine deutlich verbesserte Trennleistung.

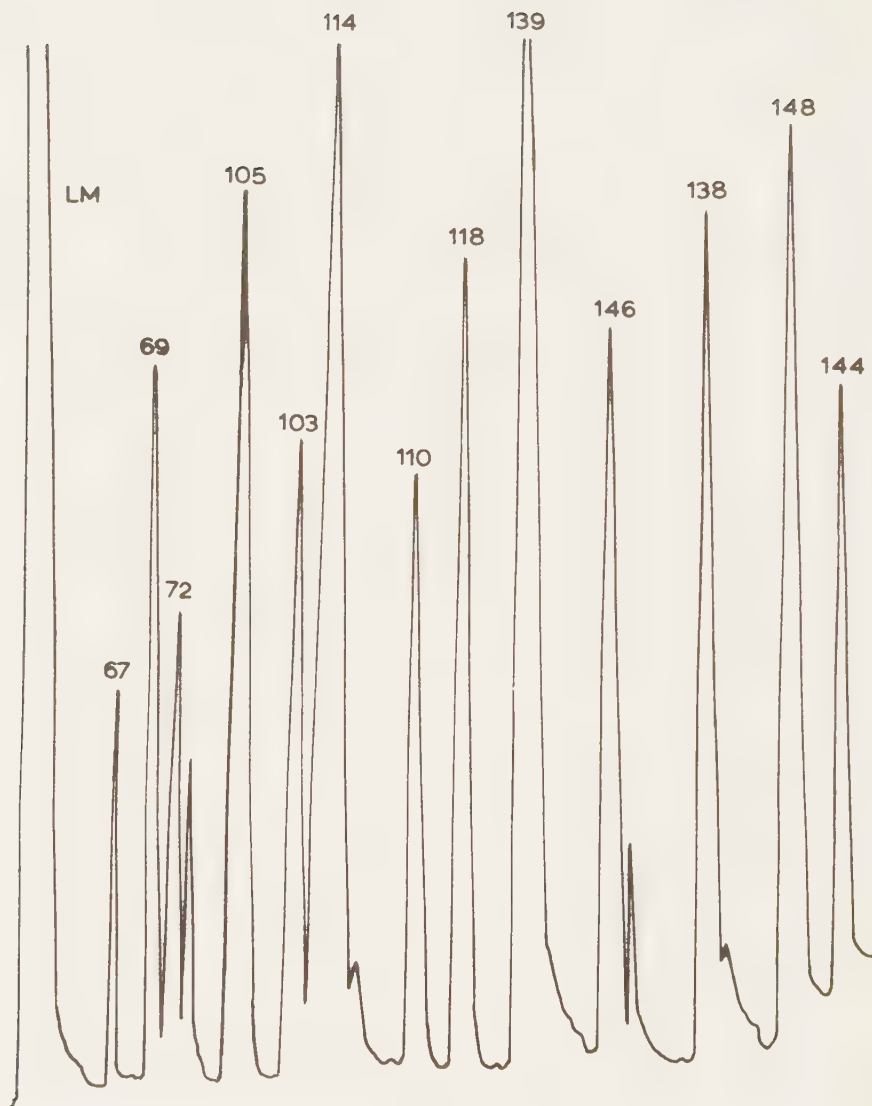


Abb.25: GC von Fraktion C1

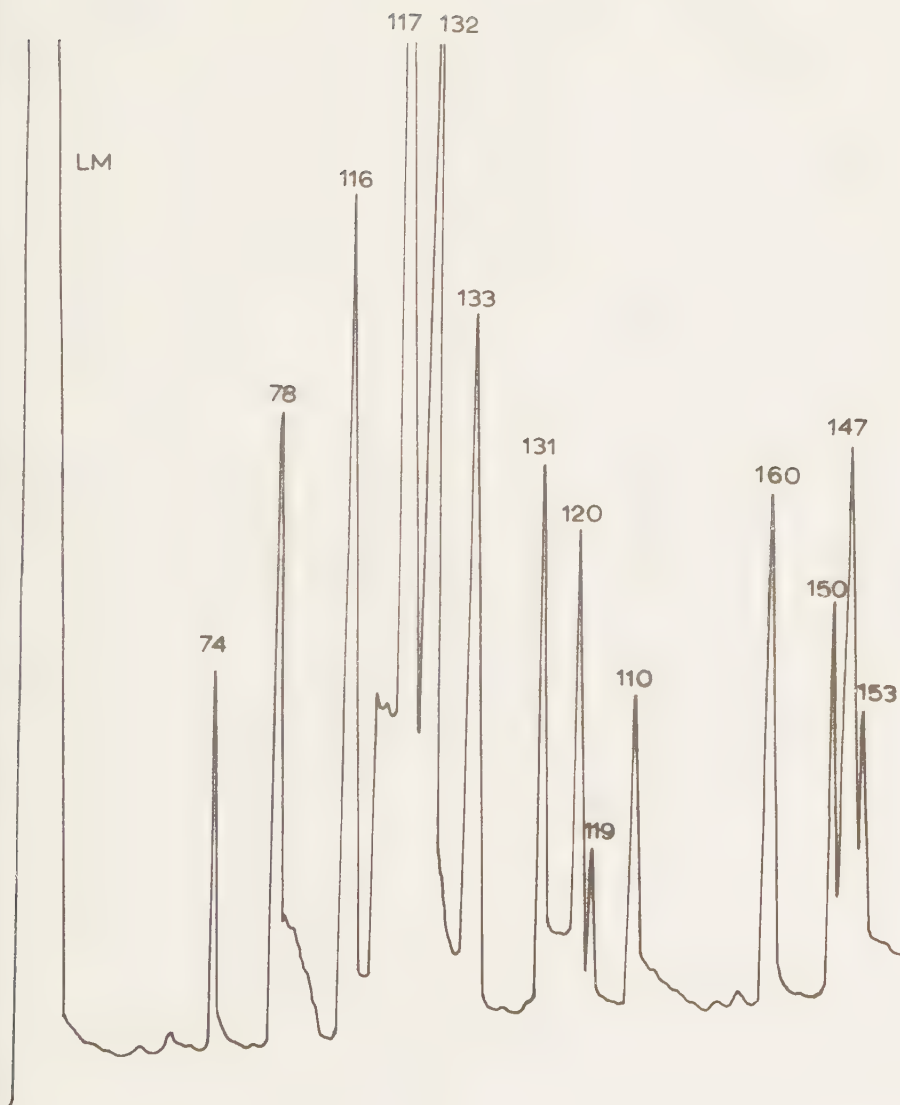


Abb.26: GC von Fraktion C2

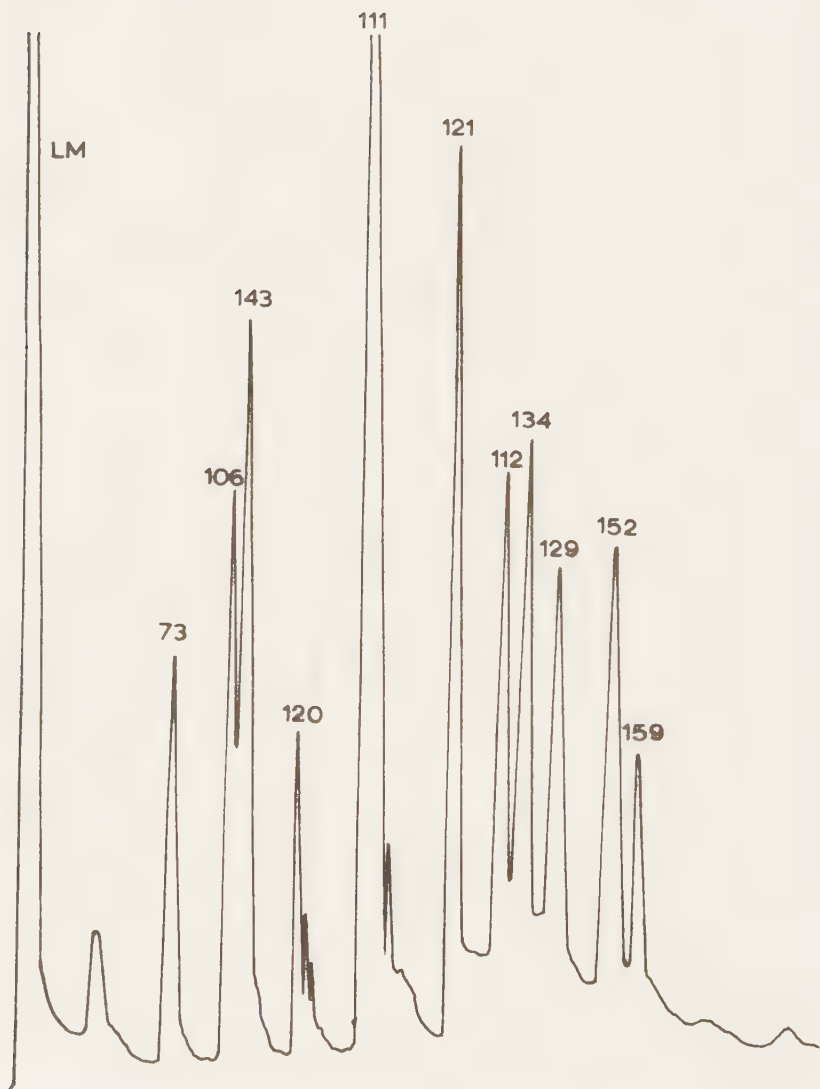
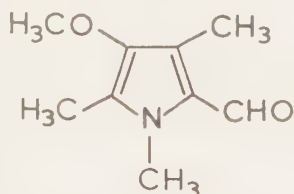


Abb.27: GC von Fraktion C3

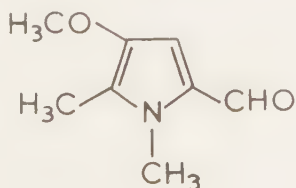
Eine Verbindung, die als Hydroxypyrrol-derivat von besonderem Interesse ist, konnte auf Grund der Spektren als 5-Formyl-3-methoxy-1,2,4-trimethyl-pyrrol (133) identifiziert werden.



133

Im Massenspektrum führt die Abspaltung eines Methyl-Radikals aus dem Molekülion (m/e 167) zum Bruchstück mit der höchsten Intensität m/e 152. Der intensive $M^+ - 1$ Peak deutet auf eine ringständige Aldehydfunktion. Die beiden beschriebenen Fragmentierungen führen zu Kationen, aus denen jeweils das Neutralteil CO zu den Bruchstücken m/e 124 bzw. m/e 138 abgespalten wird. Die im unteren Bereich auftretenden Fragmente m/e 110, 108, 94, 82, 69 und 55 sind charakteristisch für methylsubstituierte Hydroxypyrrole.

Parallelen zum homologen 1,2-Dimethyl-5-formyl-3-methoxypyrrol (117) erkennt man im IR-Spektrum.



117

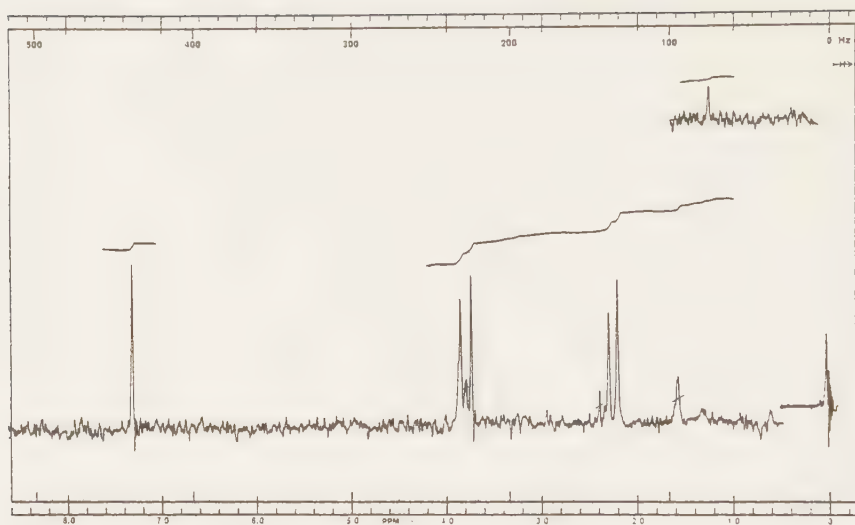
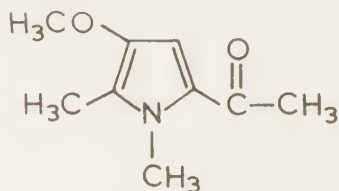


Abb.28: NMR-Spektrum von 133 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

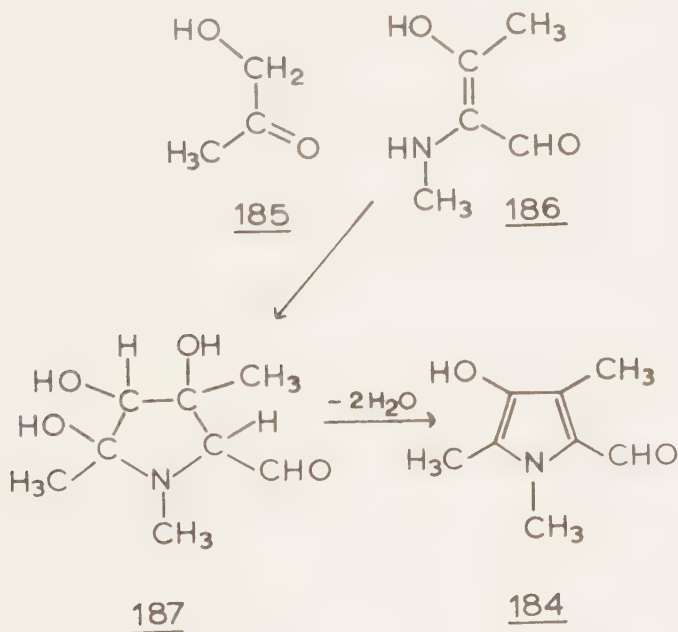
Das NMR-Spektrum (Abb.28) steht in Einklang mit der angeführten Struktur. Die Singulettts der C2-Methyl- (τ 7,84), der N-Methyl- (τ 6,31) und der O-Methylgruppe (τ 6,17) weisen nahezu gleiche chemische Verschiebungen auf wie die entsprechenden Signale der Vergleichssubstanz 117. Ein Singulett bei τ 0,80 ist dem Aldehydproton zuzuordnen. Die Anwesenheit dieses Signals schließt die isomere Struktur 132 aus.



132

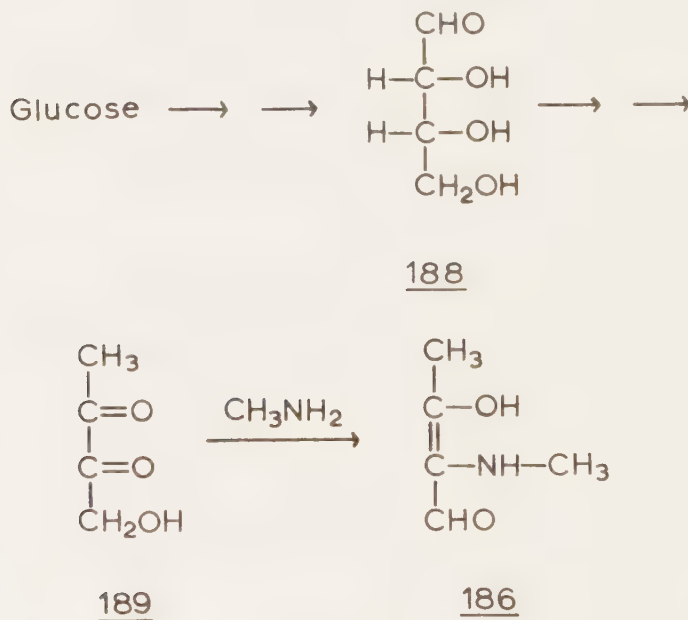
Die C4-Methylgruppe absorbiert bei τ 7,73 ; die geringe paramagnetische Verschiebung im Vergleich zur Resonanzlage der C2-Methylgruppe wird durch den Anisotropieeffekt der Carbonylfunktion verursacht.

Die im Bräunungsgemisch in nichtmethylierter Form vorliegende Verbindung 184 könnte aus Hydroxyaceton (185) und dem Methylamino-Redukton 186 entstehen (Schema 17).



Schema 17

Das Amino-Redukton 186 könnte sich aus Glucose durch mehrere Umwandlungsschritte (Schema 18) bilden. Durch Retroaldol-spaltung kann während der Maillard-Reaktion aus Glucose die Tetrose 188 entstehen, die durch intramolekulare Disproportionierungen zu 189 reagiert. Derartige Reaktionswege sind in der Zuckerchemie häufig¹⁴⁾. Das Redukton 189 setzt sich dann mit Methylamin über eine Heyns-Carson-Umlagerung zum Amino-Redukton 186 um.



Schema 18

4.4.3. Lithiumaluminiumhydrid-Reduktion schwerflüchtiger Anteile
des Methylenchlorid-Extrakts des Glucose/Methylammonium-
tartrat Bräunungsgemisches

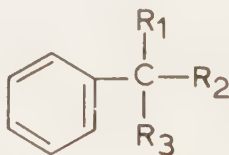
In den bisher beschriebenen Versuchen wurden nur die im Hochvakuum (0,1 Torr) flüchtigen Komponenten des Methylenchlorid-Extrakts der Bräunungsgemische erfaßt. Der Hauptanteil der mit Methylenchlorid extrahierbaren Verbindungen ist - wahrscheinlich auf Grund der Vielzahl der Hydroxyl- und Carbonylfunktionen - im Hochvakuum nicht unzersetzt destillierbar und im Fließmittel Methylenchlorid/Acetonitril nicht chromatographierbar.

Gerade über die Strukturen dieser schwerflüchtigen polaren Verbindungen besitzt man noch geringe Kenntnisse. Diese mit den bisher angewandten analytischen Techniken nicht zugänglichen Verbindungen sollten in die Untersuchungen miteinbezogen werden. Durch Reduktion der Sauerstofffunktionen zu Kohlenwasserstoffen könnten die stark polaren Substanzen in unpolare, flüchtige Verbindungen übergeführt werden, die einer GC-MS-Analyse zugänglich wären. Wie I. Ipach⁶⁷⁾ vor einiger Zeit fand, lassen sich Phenole durch Destillation mit Lithiumaluminiumhydrid in die sauerstofffreien aromatischen Grundkörper umwandeln. Sauerstoff- und Aminfunktionen in den Seitenketten werden ebenfalls durch H ersetzt. Vorteilhaft ist, daß Furan- und Pyrrolringe im wesentlichen nicht aufgespalten werden. Mit dieser Methode sollte es möglich sein, in komplexen Mischungen zu ermitteln, welche aromatischen oder heteroaromatischen Grundkörper vorliegen. Den nichtchromatographierbaren Anteil des Methylenchlorid-

Extrakts eines Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungsgemisches destillierte ich mit LiAlH_4 im Hochvakuum (0,1 Torr) bis 160° . Die übergelassenen Reaktionsprodukte wurden in einer mit flüssiger Luft gekühlten Falle aufgefangen und einer GC-MS-Analyse unterworfen (Abb.29). Über die Massenspektren konnten eine große Zahl alkylierter Benzole, Pyrrole und Furane identifiziert werden (Tabelle 4).

Die Strukturen der Alkylbenzole lassen sich bei Beachtung von massenspektrometrischen Zerfallsschemen mit einiger Sicherheit zuordnen. Die einschlägige Literatur⁶⁸⁾ weist hierfür genügend Beispiele auf.

Die dominierenden Abspaltungen von Alkylradikalen aus dem Moleküllion führen zum stabilen Tropylium-Ion (m/e 91), das meist den Basispeak darstellt.



Bei Monoalkylbenzolen mit $R_1 = \text{H}$, $R_2, R_3 \neq \text{H}$ sind die Massenzahlen ($90+R_2$) und ($90+R_3$) intensiv, wobei der größere Alkylrest bevorzugt abgespalten wird. Sind die Reste R_2 und R_3 groß ($> \text{C}_2\text{H}_5$), so ist m/e 91 intensiver als m/e ($90+R_2$) und m/e ($90+R_3$).

Polyalkylbenzole weisen jedoch ein anderes Fragmentierungsschema⁶⁹⁾ auf.

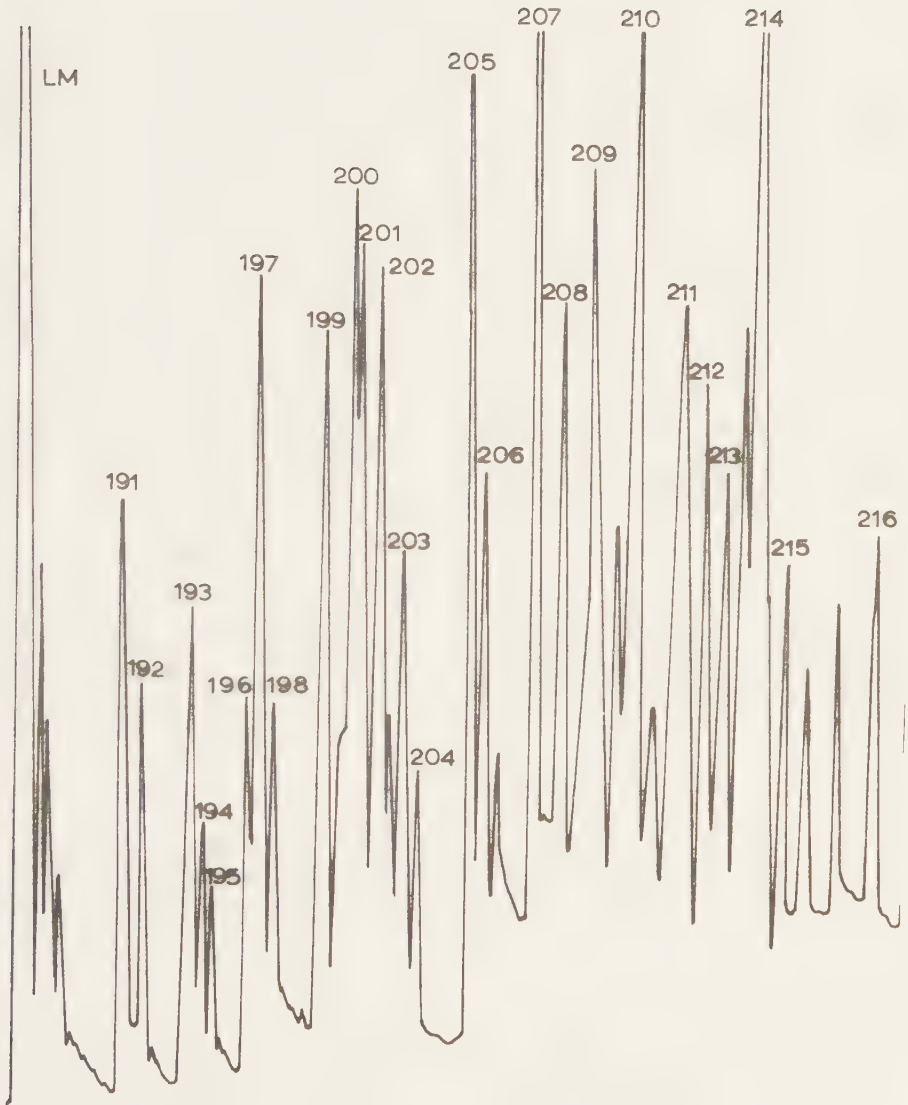
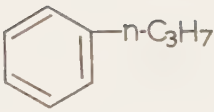
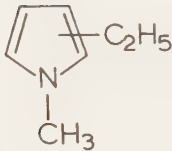
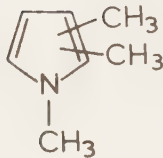
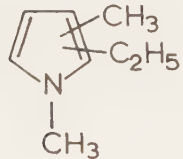
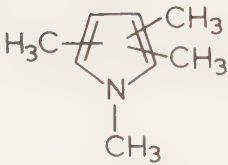
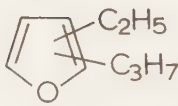
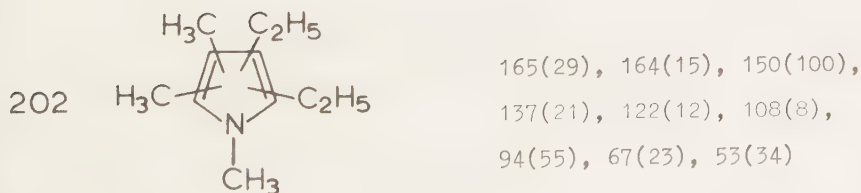
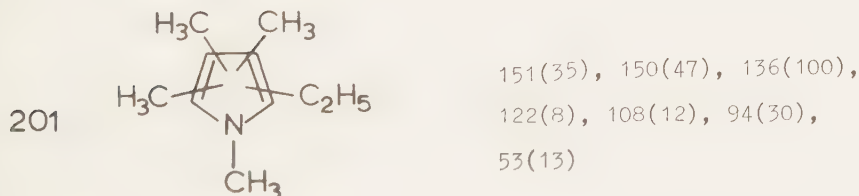
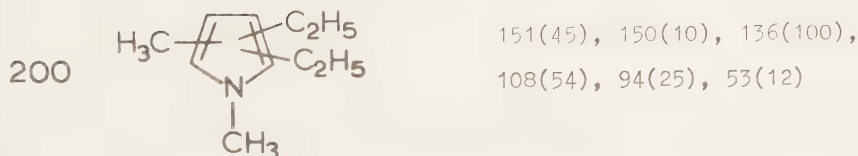
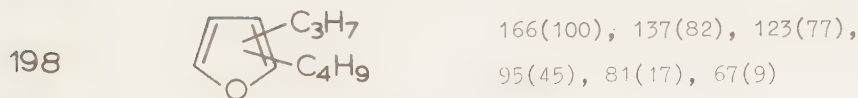
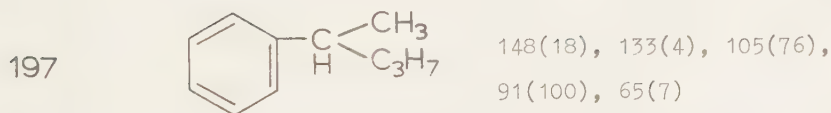
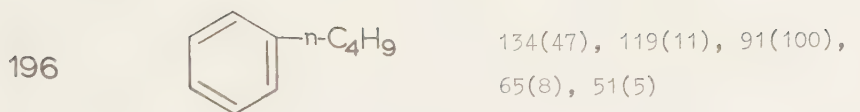
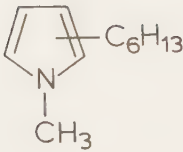
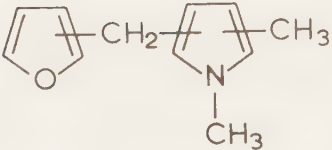
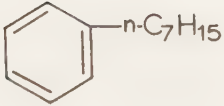
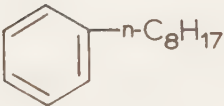
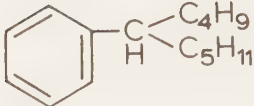
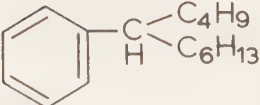
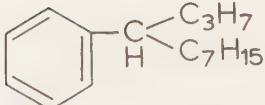


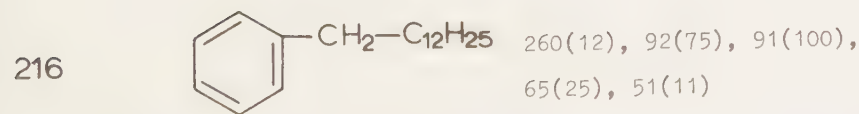
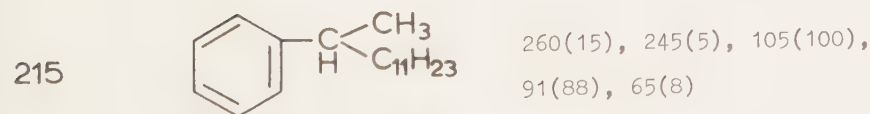
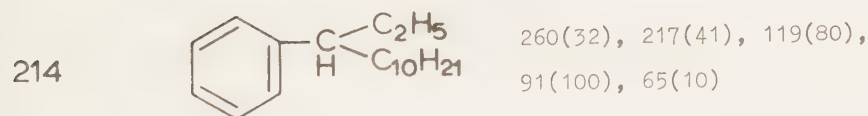
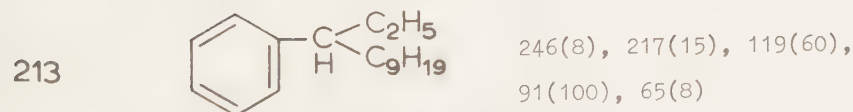
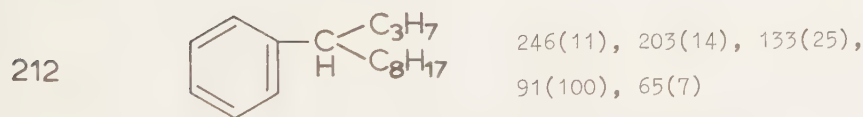
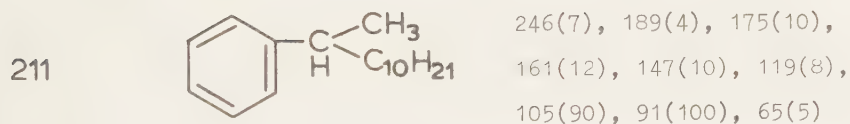
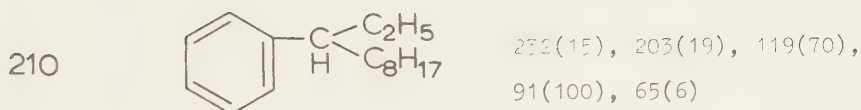
Abb.29: GC des Methylenchlorid-Extrakts nach LiAlH_4 -Reduktion

Tabelle 4

190		120(72), 92(25), 91(100), 65(32), 51(28)
191		109(53), 108(12), 94(100), 67(13), 53(18)
192		109(65), 108(100), 94(32), 67(37), 53(34)
193		123(55), 122(15), 108(100), 94(32), 67(12), 53(18)
194		123(72), 122(100), 108(45), 94(27), 67(12), 53(31)
195		138(100), 123(63), 110(75), 95(27), 81(23), 55(13)



- 203  165(10), 94(100), 67(5),
53(35)
- 204  175(72), 160(53), 108(37),
94(85), 67(19), 55(26),
53(13), 39(22)
- 205  176(8), 92(30), 91(100),
65(11)
- 206  190(14), 92(46), 91(100),
65(13)
- 207  218(15), 161(34), 147(39),
91(100), 65(10)
- 208  232(11), 175(17), 161(13),
147(29), 105(31), 91(100)
- 209  232(12), 189(14), 133(40),
91(100), 65(5)



Bedingt durch die geringen Ausbeuten konnten bei den aufgeführten Verbindungen keine zusätzlichen Spektraldaten gesammelt werden; die angegebenen Strukturen sind daher auch nicht mit Sicherheit zu belegen. Die Monoalkylbenzole könnten aus Chinon- und Hydrochinonderivaten des Bräunungsgemisches durch LiAlH_4 -Reduktion entstanden sein. Interessant ist das Vorliegen der langen Alkylsubstituenten am Benzolring. Die Ergebnisse zeigen, daß die LiAlH_4 -Destillation zur Strukturaufklärung bedingt geeignet ist.

5. Zurückdrängung der Bräunung bei der Glucose/Methylammoniumtartrat Umsetzung

Die Bildung der Melanoidine wird u.a. auf die Polykondensation von 2-Hydroxy-acetyl-furan zurückgeführt⁷⁰⁾.

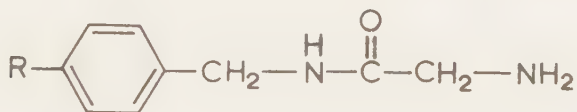
Mein Ziel war es, die niedermolekularen Bräunungsvorstufen abzufangen, bevor sie zu polymeren Melanoidinkörpern weiterreagieren.

5.1.

Zucker setzen sich mit Aminen u.a. zu Desoxyaminosackern um. Man könnte diesen Aminosucker in monomolekularer Schicht auf der Oberfläche eines indifferenten Trägers (Aluminiumoxid, Cellulose, Kieselgel usw.) fixieren. Beim Erhitzen sollte es vermindert zu intermolekularen Reaktionen kommen.

Eine andere brauchbare Methode zur Immobilisierung des Amino-

zuckers besteht darin, ihn aus der Lösung in frisch gefälltes Aluminiumhydroxid-Gel in monomolekularer Form einzuschließen. Beim Erhitzen ist mit geringer Bräunung zu rechnen, da potentielle Bräunungsvorstufen im Gel räumlich getrennt vorliegen. Bei beiden beschriebenen Verfahren isoliert man anschließend die Intermediärsubstanzen der Melanoidine durch Extraktion. Erfolgversprechender scheint es, in Analogie zur Merrifield-Technik⁷¹⁾ der Peptidsynthese die Aminosäurekomponente des Reaktionsansatzes auf dem Trägerharz in folgender Form zu verankern.



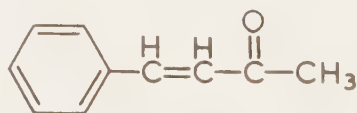
Nach der thermischen Umsetzung mit Zuckern können die N-freien Reaktionsprodukte vom Träger abgewaschen werden. Die N-haltigen Verbindungen jedoch können auf Grund ihrer Fixierung auf dem Harz intermolekular nicht weiterreagieren. Durch Hydrolyse werden sie später vom Träger abgelöst.

Diese drei Methoden brachten in den von mir durchgeführten Vorversuchen noch unbefriedigende Ergebnisse und wurden deshalb vorläufig zurückgestellt.

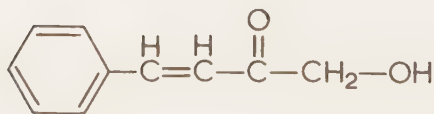
5.2.

Eine der Schlüsselreaktionen zu den Melanoidinen ist die C,C-Verknüpfung von CH-aciden und carbonylaktiven Zuckerumwandlungsprodukten. Die methylenaktiven Verbindungen sollten sich mit Aldehyden abfangen lassen, bevor sie als reaktive Zwischenprodukte weiter den Bräunungsablauf mitbestimmen. Im Experiment erhitzte ich den Glucose/Methylammoniumtartrat Reaktionsansatz mit Benzaldehyd. Unerwarteterweise förderte der Zusatz von Benzaldehyd die Bildung schwarzbrauner, schwerlöslicher Substanzen. Ähnliche Beobachtungen sind bereits beschrieben; so erhöht sich die Bräunungsrate von Aprikosenkonzentrat, wenn man Furfural zusetzt⁷²⁾.

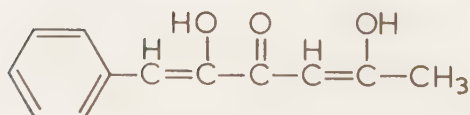
Im Methylenchlorid-Extrakt des Bräunungsansatzes konnte ich nur folgende Kondensationsprodukte von Benzaldehyd nachweisen:



217



218



219

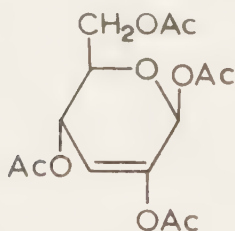
Der Strukturvorschlag für die in der Literatur nicht beschriebene Verbindung 219 basiert auf dem IR- und dem MS-Spektrum. Das NMR-Spektrum gab auf Grund der geringen Substanzmenge keine eindeutigen Informationen.

5.3.

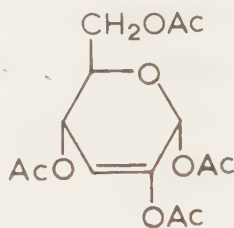
Reaktive Intermediärsubstanzen können durch Extraktion während der thermischen Umsetzung von Zuckern mit Aminen abgefangen werden. Zu diesem Zweck wurde der aus Glucose und Methylamin dargestellte Aminosucker auf Aluminiumoxid aufgezogen. Im Heißextraktor wurde er durch den aufsteigenden Dampf und das vom Kühler abtropfenden Kondensat von Essigsäureäthylester auf ca. 75° erhitzt. Die hierbei gebildeten Reaktionsprodukte des Aminosuckers wurden gleichzeitig extrahiert. Extrakt und Extraktionsmittel wurden in dreiminütigen Abständen abgesaugt und durch frischen Essigester ersetzt.

Die gesammelten Extrakte bestehen aus farblosen Kristallen, die sich in Anwesenheit von Luftsauerstoff bald gelbbraun verfärben. Die Identifizierung erwies sich als schwierig: Die Informationen aus NMR- und Massenspektren waren unzureichend. Das IR-Spektrum ließ auf die Anwesenheit von Hydroxylgruppen und Doppelbindungselemente schließen. Außerdem bewirkte diese Substanz eine positive Fehling-Reaktion. Nach Silylierung bzw. Acetylierung konnte sie gaschromatographisch in drei Hauptkomponenten aufgetrennt werden. Die Acetyllderivate wurden durch GC-Splitting gesammelt und ihre Spektren aufgenommen.

Bei zwei kristallinen Verbindungen, die nahezu identische IR-, NMR- und Massenspektren aufweisen, handelt es sich um die Tetraacetylderivate 220 und 221 der α - und β -Anomere von 3-Desoxy-glucoson (222) in der Enolform (224).



220



221

Im Massenspektrum folgt auf die Primärfragmentierung von Essigsäure ($M^+ - 60$) eine CO-Eliminierung zum Bruchstück m/e 242. Dreifache Acetylabsplaltung führt dann zum Fragment m/e 115. Das IR-Spektrum zeigt intensive Banden bei 1740 cm^{-1} und 1210 cm^{-1} , die typisch für Carbonsäureester sind. Fehlende O-H-Valenzschwingungsbanden deuten auf peracetylierte Substanzen. Im NMR-Spektrum (Abb.30) ist die Signalgruppe bei τ 7,9 den vier Acetylgruppen zuzuordnen; die Singulets zweier Methylgruppen weisen die gleiche chemische Verschiebung auf. Die Methylen- und Methinprotonen ergeben Signale bei τ 5,8, τ 4,8 und τ 4,2, deren exakte Zuordnung schwierig ist. E. Anet⁷³⁾ zersetzte Difructosylglycin durch Erhitzen und isolierte 3-Desoxy-glucoson (222), das in der cyclischen Halb-acetalform 223 vorliegt.

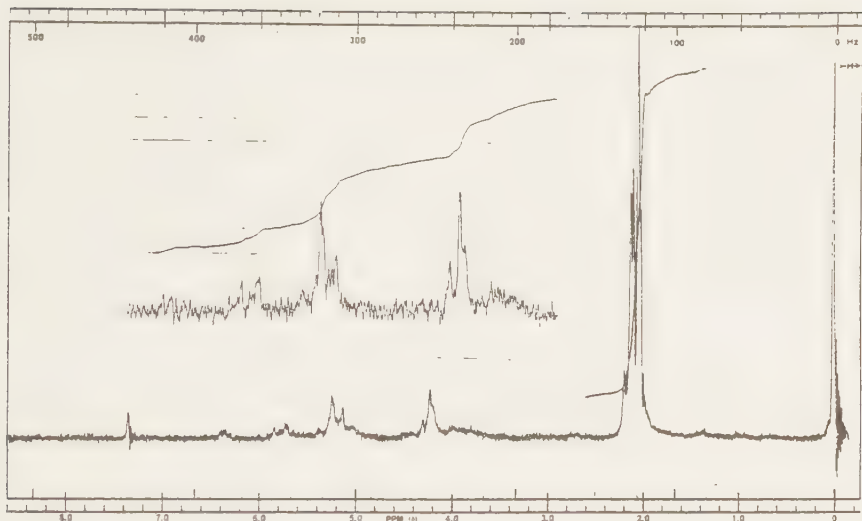
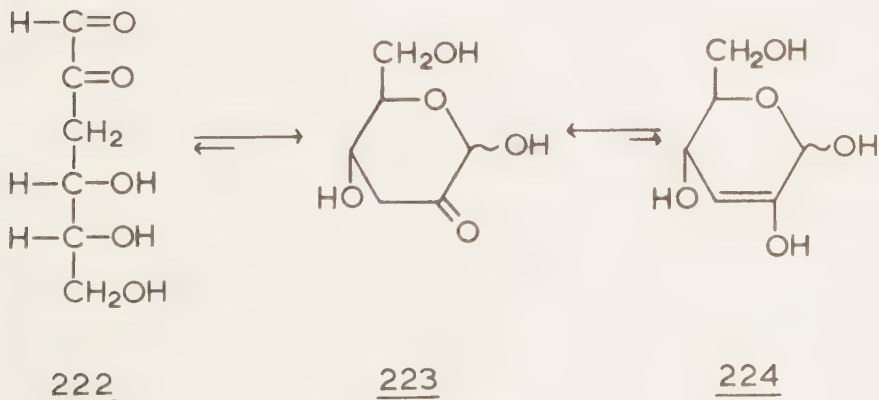


Abb. 30: NMR-Spektrum von 220 und 221 in CDCl_3 ⁷⁸⁾

Durch die beschriebene Extraktions- und Derivatisierungsmethode gelang es mir, 3-Desoxy-glucosone in der cyclischen Enolform 224 als Acetylderivate zu isolieren.



Die Osone stellen sehr reaktive Zwischenstufen bei der Bildung der niedermolekularen Maillard-Produkte und der höhermolekularen, braunen Pigmente dar⁷⁴⁻⁷⁷⁾.

Für die dritte Komponente, die durch GC-Splitting nur in geringer Menge anfiel, kann ich noch keine Struktur angeben. Aus dem NMR-Spektrum sind drei Acetylgruppen zu ersehen. Das IR-Spektrum ähnelt sehr denen von 220 und 221. Der Molekülpeak des Massenspektrums zeigt das Molekulargewicht 270 an. Die Differenz zum Molekulargewicht von 220 und 221 beträgt 60 Masseneinheiten, d.h. eine Essigsäureeinheit. Die nichtacetylierte Form entsteht somit aus 223 durch Abspaltung von Wasser.

Das Abfangen reaktiver Intermediärsubstanzen im Verlauf der Bräunungsreaktion ist eine geeignete Methode, um unsere Kenntnisse über die Maillard-Reaktion zu erweitern.

6. Zusammenfassung

Nichtenzymatische Bräunungsreaktionen (Maillard-Reaktion), die auf Umsetzungen von Zuckern mit Aminkomponenten beruhen, führen zur Bildung von nieder- und mittelmolekularen, oft geruchs- und geschmacksintensiven Verbindungen sowie von hochmolekularen, schwarzbraunen Substanzen, den Melanoidinen.

Aus Bräunungsansätzen des Modellsystems Glucose/Diäthylammoniumtartrat isolierte ich neben Amino-Hexose-Reduktonen (6 und 8) 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (7). Eine unabhängige Synthese bestätigte die Struktur dieser bisher unbekannten Verbindung.

An Hand des Amino-Hexose-Reduktons 6 wurde eine empfindliche Nachweismethode ausgearbeitet, mit deren Hilfe das Reduktionssystem unabhängig von der Art der Aminkomponente erfaßt werden kann. Beim Erhitzen von 6 mit Methanol und p-Toluolsulfonsäure bilden sich 1-Methyl-1,3,4-trimethoxy-cyclopent-3-en-2-on (17) und 1,4-Dimethoxy-3-hydroxy-1-methyl-cyclopent-3-en-2-on (18), die sich gaschromatographisch bestimmen lassen. In Bräunungsansätzen von Glucose mit primären Aminen konnten über die Reduktonäther 17 und 18 keine Reduktone dieser Struktur nachgewiesen werden. Jedoch gelang es durch Anwendung der Methanolyse auf derartige Bräunungsansätze 1,4-Dimethyl-2-methoxy- Δ^3 -pyrrolin-5-on (39) und 4,5-Dimethoxy-3-methyl-2-oxazolidon (40) zu isolieren. Wie Vorversuche zeigten, eignet sich diese Derivatisierungsmethode zur Untersuchung von hitzebehandelten Lebensmittel, z.B. von Bier und Schokolade.

Das Spektrum der niedermolekularen Maillard-Produkte konnte durch Anwendung der Kombination von Gaschromatographie und Massenspektrometrie auf Bräunungsreaktionen von Glykolaldehyd, Glycerinaldehyd, Erythrose bzw. Glucose mit Methylammonium-tartrat erweitert werden. Die komplexen Reaktionsgemische enthielten vorwiegend stickstoff- und sauerstoffhaltige Heterocyclen. Die Auftrennung der Methylenchloridauszüge von Bräunungsgemischen führte zur Isolierung neuer Verbindungen: 3,5-Dihydroxy-1,2-dimethyl-4-pyridon (162), 3,5-Dihydroxy-1,2-dimethyl-6-(2-oxoprop-1-yl)-4-pyridon (163) aus Glycerinaldehyd, sowie 5-Acetyl-1,2-dimethyl-3-hydroxy-pyrrol (176), 2-(N-Acetyl-methylamino)-1-methyl-pyrrol (111) und Bi-2,3-dihydro-5-methyl-2-methylamino-furan-3-on-4-yl (180) aus Glucose. Die Methylierung OH-Gruppen-haltiger Heterocyclen erleichtert die Auftrennung der komplexen Bräunungsgemische ; zudem erhielt ich dabei ein interessantes Hydroxypyrrol-derivat, nämlich 5-Formyl-3-methoxy-1,2,4-trimethyl-pyrrol (133).

Aus den nichtchromatographierbaren Anteilen des Methylenchlorid-Extrakts von Glucose-Bräunungsansätzen konnten nach LiAlH_4 -Reduktion mit Hilfe der GC-MS-Technik verschiedenartige Alkylpyrrole, -furane und -benzole nachgewiesen werden. Vielversprechende Ansätze zeigten die Versuche zur Isolierung von reaktiven Zwischenstufen im Verlauf der Bräunungsreaktion. Durch Extraktion während der Umsetzung erhielt ich ein Gemisch von drei Desoxyosonen, die als Acetyl-derivate charakterisiert wurden. In welchem Umfang derartige Osone an der Bildung der Melanoidine beteiligt sind, muß noch untersucht werden.

7. Literaturverzeichnis

- 1) L.C.Maillard, C.R.hebd.Seances Acad.Sci. 154, 66 (1912)
- 2) T.M.Reynolds, Food Technol.Australia 22, 610 (1970)
- 3) J.H.Tatum, P.E.Shaw, R.E.Berry, J.Agric.Food Chem. 15,
773 (1967)
- 4) J.R.Hunter, M.K.Walden, W.H.MacFadden, J.W.Pence,
Cereal Sci.Today 11, 493 und 500 (1966)
- 5) J.R.Hunter, M.K.Walden, J.R.Scherer, R.E.Lunden,
Cereal Chem. 46, 189 (1969)
- 6) F.D.Mills, B.G.Baker, J.E.Hodge, Carbohydr.Res. 15,
205 (1970)
- 7) U.Krönig, Th.Severin, Chem.Mikrobiol.Technol.Lebensm. 2,
49 (1973)
- 8) G.R.Jurch, J.H.Tatum, Carbohydr.Res. 15, 233 (1970)
- 9) Th.Wieland, Th.Severin, Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 153,
201 (1973)
- 10) G.Manninger, Th.Severin, Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 161,
45 (1976)
- 11) Th.Severin, A.Loidl, Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 161, 119 (1976)
- 12) J.E.Hodge, C.E.Rist, J.Am.Chem.Soc. 75, 316 (1953)
- 13) F.Weygand u.Mitarb., Tetrahedron 6, 123 (1959)
- 14) H.Simon, Chem.Ber. 95, 1003 (1962)
- 15) F.D.Mills, J.E.Hodge, Carbohydr.Res. 51, 9 (1976)
- 16) H.v.Euler, R.Eistert, Chemie und Biochemie der Reduktone
und Reduktonate, F.Enke-Verlag, Stuttgart 1957
- 17) T.M.Reynolds, Adv.Food Res. 14, 232 (1965)

- 18) M.A.Joslyn, Food Res. 22, 1 (1957)
- 19) A.Schönberg, R.Moubacher, Chem.Revs. 50, 261 (1952)
- 20) G.M.Sapers, O.Panasiuk, F.B.Talley, S.M.Osman, J.Food Sci. 37, 579 (1972)
- 21) Th.Sabalitschka, J.Marggraff, Dtsch.Lebensm.-Rdsch. 44, 32 (1948)
- 22) A.Domah, J.Davidek, J.Velisek, Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 154, 270 (1974)
- 23) F.Wokes, J.G.Organ, J.Duncan, F.C.Jacoby, Nature 152, 14 (1943)
- 24) M.C.Miller, Food Res. 12, 343 (1947)
- 25) S.Kamiya, Nippon Nogeikagaku Kaishi 34, 8 (1960)
- 26) W.B.Robinson, E.Stotz, J.Biol.Chem. 160, 217 (1945)
- 27) R.Strohecker, H.Pies, Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 118, 394 (1962)
- 28) J.Schormüller, K.H.Müller, Nahrung 11, 695 (1967)
- 29) A.M.Abadin, F.Pinaga, E.Prime, Revista de Agroquímica y Tecnología de Alimentos 15, 69 (1975)
- 30) O.Hinsberg, A. 237, 327 (1887)
- 31) D.H.Williams, I.Fleming, Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie, G.Thieme Verlag Stuttgart (1972)
- 32) L.J.Bellamy, Ultrarot-Spektren und chemische Konstitution, D.Steinkopff Verlag Darmstadt (1966)
- 33) H.Simon, G.Heubach, Chem.Ber. 98, 3703 (1965)
- 34) Th.Severin, W.Seilmeier, Z.Lebensm.Unters.-Forsch. 137, 4 (1968)
- 35) W.Seilmeier, Diss. München (1968)

- 36) R.Elderfield, Heterocyclic Compounds, Vol.5, John Wiley and Sons, London (1957)
- 37) R.Tressl, T.Kossa, R.Renner, Mschr.Brauerei 27 Nr.5, 98(1974)
- 38) Organic Syntheses, Coll.Vol. 2, 397, John Wiley and Sons, London (1957)
- 39) Z.Mighri, P.Rumpf, Bull.Soc.Chem.Fr. 3, 689 (1975)
- 40) Q.N.Porter, J.Baldas, Mass Spektrometry of Heterocyclic Compounds, John Wiley and Sons, London (1971)
- 41) O.Terada, S.Suzuki, S.Kinoshita, Nippon Nogeikagaku Kaishi 36, 623 (1962)
- 42) A.R.Katritzky, R.H.Jones, Spectrochim.Acta 17, 64 (1961)
- 43) H.Pehr, G.Manninger, Th.Severin, Carbohydr.Res. (in Druck)
- 44) P.E.Shaw, J.H.Tatum, Carbohydr.Res. 16, 207 (1971)
- 45) R.Stoll et al., Helv.Chim.Acta 16, 703 (1933)
- 46) G.Ciamiciam, P.Silber, Ber. 27, 851 (1894)
- 47) W.Borsche, Ber. 66, 803 (1933)
- 48) W.Schmidt, K.Kraft, Ber. 74, 33 (1941)
- 49) J.Haworth, H.Hirst, G.R.Jones, J.Chem.Soc. 63, 710 (1938)
- 50) R.Votocek, H.Malackta, Coll.Czechoslov.Chem.Communs. 8, 66 (1936)
- 51) L.Telegdy-Kovats, A.Rajky, Nahrung 2, 893 (1958)
- 52) E.Späth, L.Raschik, Monatsh. 76, 65 (1946)
- 53) C.Enders, Biochem.Z. 312, 340 (1942)
- 54) U.Krönig, Diss. München (1974)
- 55) A.R.Katritzky, A.P.Ambler, Physical Methods in Heterocyclic Chemistry Vol.II, Academic Press, New York (1963)
- 56) A.Loidl, Diss. München (1976)

- 57) A.Emmerling, G.Loges, Chem.Ber. 16, 837 (1883)
- 58) O.Baudisch, H.Deuel, J.Am.Chem.Soc. 44, 1585 (1922)
- 59) Th.Wieland, Diss. München (1972)
- 60) K.Aso, H.Sugisawa, P.Tohoku, J.Agric.Res. 5, 143 (1954)
- 61) W.Schnell, Diss. München (1975)
- 62) K.Aso, H.Sugisawa, Agric.Chem.Soc.Japan 10, 1201 (1934)
- 63) G.Manninger, Diss. München (1977)
- 64) R.E.Rosenkranz u. Mitarb., Helv.Chim.Acta 46, 1259 (1963)
- 65) J.S.Fagerson, J.Agr.Food Chem. 17,No.4, 747 (1969)
- 66) H.O.Kalinowski, D.Seebach, G.Grass, Angew.Chem. 87, 812(1975)
- 67) Th.Severin, I.Ipach, Synthesie 1973, 796
- 68) H.M.Grubb, S.Meyerson in F.W.McLafferty, Mass Spectrometry of Organic Ions, Academic Press, New York 1963, S.453
- 69) W.Benz, Massenspektrometrie org. Verbindungen, Akad. Verlagsgesellschaft Frankfurt/Main (1969)
- 70) K.Heyns, E.Hauber, Liebigs Ann.Chem. 733, 159 (1970)
- 71) R.B.Merrifield, J.Am.Chem.Soc. 85, 2149 (1963)
- 72) V.A.Haas u. Mitarb., J.Am.Chem.Soc. 70,3576 (1948)
- 73) E.F.L.J.Anet, Austral.J.Chem. 12, 280 (1959)
J.Am.Chem.Soc. 82, 1502 (1960)
Austral.J.Chem. 13, 396 (1960)
Austral.J.Chem. 15, 503 (1962)
- 74) H.Kato, M.Fujimaki, J.Food Sci. 33, 445 (1968)
- 75) H.Kato, Agr.Biol.Chem. 24, 1 (1960)
- 76) H.Kato, Agr.Biol.Chem. 26, 187 (1962)
- 77) H.Kato, Agr.Biol.Chem. 31, 1086 (1967)
- 78) Tetramethylsilan als internen Standard

Experimenteller Teil

1. Allgemeine Methoden

Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Chromatographische Trennungen wurden mit Kieselgel PSC-Fertigplatten Merck F₂₅₄ (2 mm Schichtdicke) ausgeführt. Die IR-Spektren bestimmte ich mit einem Perkin-Elmer 257 Grating Infrared Spectrophotometer. Die Massenspektren wurden mit einem Varian CH 7 Mass-Spectrometer (70 eV, Ionenquellentemperatur 230°) gemessen. Die ¹H-NMR-Spektren wurden mit einem Varian T 60 NMR-Spectrometer (60 MHz) aufgenommen; als internen Standard benutzte ich Tetramethylsilan. Die UV-Spektren bestimmte ich mit einem Beckman Spectrophotometer 25. Die GC-Analysen wurden mit einem Varian Aerograph Series 2800 mit eingebauten Splitter ausgeführt.

2. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Diäthylammoniumtartrat

Eine Lösung von 200g D-Glucose (Monohydrat), 73g Diäthylamin und 75g Weinsäure in 500 ml Wasser wird 2h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Lösung extrahiert man 12h im Perforator mit Methylenchlorid. Die braune organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und i.Vak. eingedampft.

2.1. Isolierung von 1,3-Dihydroxy-1-methyl-4-(N-diäthylamino)-cyclopent-3-en-2-on (6)

Erhaltenes Öl kristallisiert beim Stehen im Eisschrank nach etwa 3 Tagen durch. Umkristallisieren aus Tetrachlorkohlenstoff ergibt farblose Kristalle. Schmp. 167°, Ausb. 7% (bez. auf Glucose).

MS: m/e 199(100, M^+), 184(78), 182(80), 170(39), 166(58),
156(61), 153(67), 152(72), 128(40), 110(37), 98(42),
96(66), 72(70), 58(63), 55(65), 43(68)
IR(KBr): 3270, 2970, 1670, 1530, 1435, 1360, 1210, 1080, 810,
800, 755 cm^{-1}
NMR(CDCl_3): τ 8,77(t, $J=7\text{Hz}$, 6H), τ 8,53(s, 3H), τ 7,33(s, 2H),
 τ 6,40(q, $J=7\text{Hz}$, 4H)
Ber. für $\text{C}_{10}\text{H}_{17}\text{NO}_3$ (199,25): C 60,28 H 8,60 N 7,03
Gef.: C 60,37 H 8,49 N 7,02

2.2. Isolierung von 3-Hydroxy-1-methyl-4-(N-diäthylamino)- cyclopent-3-en-2-on (8)

Die Mutterlauge wird nach Abtrennung von 6 i.Vak. eingedampft
und bei etwa 0,1 Torr bis 140° destilliert. Das Destillat
untersucht man gaschromatographisch weiter.

Säule: Stahlsäule OV 17 auf Chromosorb W 60-80 mesh, 5m Länge,
1/8" $\varnothing$

Säulentemp.: $80-250^\circ$, $4^\circ/\text{min}$

Detektortemp.: 250° Injektortemp.: 280°

Gasdurchfluß: 30ml/min

Das Gaschromatogramm ist im theoret. Teil abgebildet (Abb.1)
Durch GC-Splitting wird die Substanz 8 ($\text{RT}=55\text{min}$) in einer
luftgekühlten Glaskapillare aufgefangen.

Farblose Kristalle, Schmp. 143° , Ausb. 1% (bez. auf Glucose)

MS: m/e 183(92, M^+), 168(90), 154(100), 140(48), 110(72),
98(29), 85(18), 55(53), 43(98)

IR(KBr): 3200, 2950, 1665, 1535, 1400, 1340, 1190, 1055, 985 cm^{-1}

NMR(CDCl₃): τ 8,88(d, J=5,5Hz, 3H), τ 8,78(t, J=5Hz, 6H),
 τ 7,9-7,0(m, 3H), τ 6,53(q, J=5Hz, 4H)

Die Spektren der übrigen durch GC-Splitting isolierten Verbindungen 5, 7, 9, 10 sind im theoret. Teil (Tab.1) zu finden.

2.3. Analytischer Nachweis der Amino-Hexose-Reduktone

2.3.1. 1H-2,3-Dihydro-2,2,4-trimethyl-1,5-benzodiazepin (12)

2.3.1.1. Darstellung aus 6

Eine Lösung von 100 mg 6 in 5 ml Methanol wird mit 5 Tropfen Eisessig versetzt. Man tropft eine methanolische Jodlösung zu, bis eine braune Färbung auftritt. Anschließend werden 55 mg o-Phenylendiammin zugesetzt und 15 min unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach Abdampfen des Lösungsmittels i.Vak. wird der Rückstand bei 0,1 Torr und 100° sublimiert.

Farblose Kristalle, Schmp. 125°, Ausb. 32%

2.3.1.2. Darstellung aus Aceton

Eine Lösung von 100 mg o-Phenylendiammin in 2 ml Aceton wird mit 5 Tropfen Eisessig versetzt und dann 15 min unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernen des Lösungsmittels i.Vak. kristallisiert der gelbe Rückstand. Umkristallisieren aus Ligroin ergibt farblose Kristalle, Schmp. 126°, Ausb. 74%

MS: m/e 188(78, M⁺), 173(100), 158(27), 133(91), 132(94), 132(94),
131(67), 117(35), 104(25), 92(65), 77(41), 65(68)

IR(KBr): 3300, 2970, 1640, 1600, 1480, 770 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 8,60(s, 6H), τ 7,75(s, 3H), τ 7,62(s, 2H),
 τ 7,12(s, 1H), τ 3,3-2,8(m, 4H)

Ber. für C₁₂H₁₆N₂ (188,28): C 76,56 H 8,57 N 14,88

Gef.: C 76,72 H 8,49 N 14,93

2.3.2. Methanolyse von 1,3-Dihydroxy-1-methyl-4-(N-diäthylamino)-cyclopent-3-en-2-on (6)

In 20ml Methanol wird 1g 6 unter Zusatz von 0,2g p-Toluol-sulfonsäure 2h unter Rückfluß gekocht. Nach Filtration über eine kurze Al_2O_3 -Säule (Akt.III) engt man i.Vak. ein und chromatographiert auf Kieselgel PSC-Fertigplatten im Fließmittel Benzol/Äthylacetat (1+1). Sechs unter UV-Licht ($\lambda = 254\text{nm}$) fluoreszenzlöschende Zonen werden ausgekratzt und mit Aceton eluiert. Nach Entfernung des Lösungsmittels i.Vak. destilliert man die sechs Fraktionen bei 0,1 Torr bis 100° .

2.3.2.1. 1-Methyl-1,3,4-trimethoxy-cyclopent-3-en-2-on (17)

Rf 0,65, Farbloses Öl, Ausb. 30%

MS: m/e 186(39, M^+), 171(85), 155(96), 143(18), 127(31),
97(15), 83(27), 68(75), 55(32), 43(100), 41(98)

IR(Film a.NaCl): 2960, 1720, 1640, 1470, 1335, 1210, 1155,
1095, 690 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 8,51(s, 3H), τ 7,63(s, 1H), τ 7,52(s, 1H)
 τ 6,79(s, 3H), τ 6,08(s, 3H), τ 5,59(s, 3H)

Ber. für $\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_4$ (186,21): C 58,05 H 7,58

Gef.: C 58,17 H 7,51

2.3.2.2. 1,4-Dimethoxy-3-hydroxy-1-methyl-cyclopent-3-en-2-on (18)

Rf 0,50, Farblose Kristalle, Schmp. 121° , Ausb. 25%. Bei einer Erhitzungszeit von 30 min entsteht 18 in einer Ausbeute von 60%.

MS: m/e 172(11, M^+), 142(61), 127(22), 112(20), 97(28), 83(47)
69(73), 55(69), 43(100)

IR(KBr): 3280, 2960, 1715, 1620, 1470, 1405, 1360, 1120, 1015,
860, 780 cm^{-1}

NMR(CDCl₃): τ 8,59(s,3H), τ 7,51(s,1H), τ 7,43(s,1H)

τ 5,50(s,3H), τ 5,33(s,3H)

Ber. für C₈H₁₂O₄ (172,18): C 55,31 H 7,02

Gef.: C 55,87 H 6,88

2.3.2.3. 1-Methyl-1,2,3-trimethoxy-cyclopent-2-en-4-on (19)

Rf 0,60 , Farbloses Öl, Ausb. 5%

MS: m/e 186(37,M⁺), 171(29), 156(81), 143(57), 141(55), 124(20),
113(23), 85(13), 83(24), 69(31), 59(58), 43(100)

IR(Film a.NaCl): 2960, 1720, 1630, 1475, 1360, 1125 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 8,63(s,3H), τ 7,48(s,1H), τ 7,36(s,1H),
 τ 6,71(s,3H), τ 6,15(s,3H), τ 5,85(s,3H)

2.3.2.4. 1,2-Dimethoxy-3-hydroxy-1-methyl-cyclopent-2-en-4-on(20)

Rf 0,40 , Farblose Kristalle, Schmp.96°, Ausb. 3%

MS: m/e 172(28,M⁺), 142(63), 129(49), 114(19), 112(23),
97(51), 83(27), 69(41), 43(100)

IR(KBr): 3250, 1710, 1625, 1480, 1370, 1120 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 8,60(s,3H), τ 7,51(s,1H), τ 7,39(s,1H),
 τ 6,75(s,3H), τ 5,89(s,3H)

2.3.2.5. 4-Methyl-1,1,3-trimethoxy-cyclopent-3-en-2-on (21)

Rf 0,85 , Farbloses Öl, Ausb. 5%

MS: m/e 186(48,M⁺), 171(10), 158(37), 155(50), 143(78), 127(35),
115(45), 83(81), 69(84), 59(47), 43(78), 41(100)

IR(Film a.NaCl): 2950, 1725, 1650, 1620, 1465, 1350, 1100,
880, 800 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 8,00(t, J=1Hz, 3H), τ 7,42(q, J=1Hz, 2H),
 τ 6,58(s, 6H), τ 6,08(s, 3H)

2.3.2.6. 1,1-Dimethoxy-3-hydroxy-4-methyl-cyclopent-3-en-2-on(22)

Rf 0,75 , Farblose Kristalle, Schmp. 72°, Ausb. 8%

MS: m/e 172(91, M⁺), 157(21), 144(47), 141(80), 129(69), 113(75),
88(73), 69(100), 58(59), 43(92), 41(95)

IR(KBr): 3380, 1700, 1650, 1400, 1350, 1090, 780 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 8,02(t, J=1Hz, 3H), τ 7,44(q, J=1Hz, 2H),

τ 6,58(s, 6H)

Ber. für C₈H₁₂O₄ (172,18): C 55,81 H 7,02

Gef.: C 55,74 H 7,00

2.3.2.7. Methylierung von 6 zu 23

In 5 ml Acetonitril werden 100 mg 6 gelöst und nach Zugabe von
10 Tropfen Thallium(I)-äthylat mit 1 ml Methyljodid versetzt.

Man rührt bei Raumtemperatur 10h bis zum Auftreten einer tief-
gelben Färbung, filtriert und chromatographiert dann über eine
kurze Kieselgelsäule mit Methanol. Nach Entfernen des Elutions-
mittels i.Vak. bleibt 23 als öliger Rückstand. Man reinigt
durch Hochvakuumdestillation bei 0,1 Torr/80°.

Farbloses Öl, Ausb. 85%

MS: m/e 227(48, M⁺), 212(67), 198(100), 197(62), 184(71), 170(38),
156(53), 128(40), 110(49), 98(79), 72(29), 43(61)

IR(Film a.NaCl): 2960, 1690, 1540, 1410, 1370, 1090, 810 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 8,75(t, J=7Hz, 6H), τ 8,62(s, 3H), τ 7,48(s, 1H),

τ 7,40(s, 1H), τ 6,80(s, 3H), τ 6,49(q, J=7Hz, 4H),

τ 6,15(s, 3H)

2.3.2.8. Umsetzung von 17 zu 23

In einem Derivatisierungsröhrchen werden 100 mg 17 und 1 ml Diäthylamin 1h auf 80° erwärmt. Nach Abkühlen destilliert man fraktioniert im Hochvakuum. Das bei 0,1 Torr/80° übergehende farblose Öl wurde durch Spektrenvergleich identifiziert.

2.3.2.9. Gaschromatographische Bestimmung von 17, 18, 19, 20, 21, 22

Siehe 2.2.

2.4. Nachweis von Hexose-Reduktonen bei der Umsetzung Glucose/ Methylammoniumtartrat

2.4.1. Untersuchung des Methylenchlorid-Extrakts

200 g Glucose (Monohydrat) werden mit 90 g Methylamin (35 proz. wässr. Lösung) und 75 g Weinsäure in 500 ml Wasser 2h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete schwarzbraune Lösung extrahiert man 12h mit Methylenchlorid. Die organische Phase wird über Na₂SO₄ getrocknet und i.Vak. eingedampft. Den öligen Rückstand versetzt man mit 20 ml Methanol und 1,0 g p-Toluolsulfonsäure und erhitzt 2h unter Rückfluß zum Sieden. Nach Filtration über eine kurze Al₂O₃-Säule wird auf Kieselgel PSC-Fertigplatten im Fließmittel Benzol/Äthylacetat (1+1) chromatographiert. Einen 3 cm breiten Streifen der Platten benützt man zum gleichzeitigen Chromatographieren der Verbindungen 17 - 22. Die Zonen in Laufhöhe der Testsubstanzen werden abgetrennt, mit Aceton eluiert und das Lösungsmittel i.Vak. eingedampft. Die GC-Untersuchung der erhaltenen Fraktionen erfolgt unter Vergleich mit den Reinsubstanzen 17 - 22. Anschließend analysiert man im GC-MS-System.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

Ergebnisse im theoret. Teil.

2.4.2. Kontrollversuche zu 2.4.1.

Zu 5 g Methylenchlorid-Extrakt von 2.4.1. gibt man 10 mg 6 und behandelt diese Mischung wie in 2.4.1. beschrieben. Die Substanzen 17 und 18 werden durch gaschromatographischen Vergleich mit den Reinsubstanzen identifiziert.

2.4.3. Untersuchung der wässrigen Phase des Bräunungsansatzes

Die extrahierte, wässrige Lösung wird nach Gefriertrocknung analog 2.4.1. auf die Reduktonäther untersucht.

Ergebnisse im theoret. Teil.

2.4.4. Darstellung von 1,3-Dimethoxy-1-methyl-4-(N-propyl)-cyclopent-3-en-2-on (37) aus 17

In einem Derivatisierungsröhrchen werden 100 mg 17 mit 1 ml n-Propylamin 1h auf 80° erwärmt. Nach Abkühlen wird auf Kieselgel PSC-Fertigplatten im Fließmittel Methylenchlorid/Acetonitril (7+3) chromatographiert. Die fluoreszenzlöschende Zone (rf 0,65) wird ausgekratzt, mit Methanol eluiert und das Lösungsmittel i.Vak. entfernt. Der Rückstand wird durch Sublimation bei 0,1 Torr und 95° gereinigt.

Farblose Kristalle, Schmp. 137°, Ausb. 25%

MS: m/e 213(100, M⁺), 198(31), 182(42), 181(37), 152(97),
124(29), 110(33), 96(12), 83(28), 68(42), 43(95)

IR(KBr): 3230, 2940, 1665, 1590, 1510, 1430, 1320, 1075 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 9,05(t, J=6Hz, 3H), τ 8,53(s, 3H), τ 8,0-8,7(m, J=6Hz, 2H)
τ 7,72(s, 1H), τ 7,50(s, 1H), 6,90(s, 3H),

τ 6,47(q, J=6Hz, 2H), τ 6,14(s, 3H)

Ber. für $C_{11}H_{19}NO_3$ (213,28): C 61,95 H 8,98 N 6,57

Gef.: C 62,01 H 8,95 N 6,63

2.5. Methanolyse des Glucose/Methylammoniumtartrat Bräunungs- gemisches

2.5.1. Analyse des Methylenchlorid-Extrakts

Bei der Aufarbeitung nach 2.4.1. isoliert man aus der Zone (rf 0,70) ein öliges Substanzgemisch, das gaschromatographisch aufgetrennt wird.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

Die Hauptkomponenten werden in luftgekühlten Glaskapillaren gesammelt.

2.5.1.1. Isomaltolmethyläther (38)

RT 35 min, farblose Kristalle

Identifizierung durch Spektrenvergleich.

2.5.1.2. 1,4-Dimethyl-2-methoxy- Δ^3 -pyrrolin-5-on (39)

RT 47 min, farbloses Öl

MS: m/e 141(87, M^+), 126(41), 113(67), 98(73), 85(29), 81(32),
70(75), 55(100), 43(82)

IR(Film a.NaCl): 2930, 1700, 1635, 1450, 1370, 1070 cm^{-1}

NMR($CDCl_3$): τ 8,47(s, 3H), τ 6,59(s, 3H), τ 6,32(s, 3H),
 τ 5,46(d, J=2Hz, 1H), τ 4,08(d, J=2Hz, 1H)

2.5.2. Analyse der wässrigen Phase

Die extrahierte, wässrige Lösung des Bräunungsansatzes unterwirft man nach Gefriertrocknung der Methanolyse (siehe 2.4.1.).

Nach Abtrennen der p-Toluolsulfonsäure wird i.Vak. eingeeengt

und bei 0,1 Torr bis 150° destilliert. Das übergehende Öl trennt man gaschromatographisch auf und sammelt die Hauptkomponenten durch GC-Splitting.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

2.5.2.1. 4,5-Dimethoxy-3-methyl-2-oxazolidon (40)

RT 23 min, farbloses Öl

MS: m/e 161(9, M⁺), 133(17), 130(100), 105(67), 99(68), 71(79),
59(61), 45(47), 43(53)

IR(Film a.NaCl): 1745, 1435, 1260, 1200, 1095 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 6,50(s, 3H), τ 6,09(s, 6H), τ 5,78(d, J=2,5Hz, 1H),
 τ 5,42(d, J=2,5Hz, 1H)

2.5.2.2. 4-Methoxy-3-methyl-2,5-oxazolidindion (41) oder
5-Methoxy-3-methyl-2,4-oxazolidindion (42)

RT 32 min, farbloses Öl

MS: m/e 145(17, M⁺), 117(58), 114(62), 103(100), 85(42), 73(19),
59(32), 45(81), 43(97)

IR(Film a.NaCl): 1750, 1730, 1440, 1270, 1190, 1100, 1030 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 6,11(s, 3H), τ 6,53(s, 3H), τ 5,71(s, 1H)

2.6.1. Methanolyse von Bier

500 ml Dunkelbier ($\approx$ 15 g Trockensubstanz) werden gefriergetrocknet und das Trocknungsgut in 100 ml Methanol mit 3 g p-Toluolsulfonsäure 4h unter Rückfluß gekocht. Nach Filtration über eine kurze Al₂O₃-Säule engt man i.Vak. ein und destilliert bei 0,1 Torr bis 150°. Das Destillat wird im GC-MS-System analysiert.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

Ergebnisse im theoret. Teil.

Die Hauptkomponente des Destillats wird durch GC-Splitting gesammelt:

Methyliminodiessigsäuredimethylester (43)

RT 41 min, farbloses Öl

MS: m/e 175(47,M⁺), 143(100), 101(91), 59(77), 43(74)

IR(Film a.NaCl): 3460, 2940, 1735, 1430, 1350, 1200 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 7,12(s,3H), τ 6,24(s,6H), τ 6,09(s,4H)

Ber. für C₇H₁₃NO₄ (175,19): C 47,99 H 7,48 N 7,99

Gef.: C 48,05 H 7,42 N 8,03

Synthese von 43

4,7 g Monochloressigsäure werden unter Eiskühlung mit 2,0 g NaOH in 20 ml Wasser versetzt. Unter Rühren tropft man 4,5 g Methylamin (35 proz. wässr. Lösung) zu und läßt 2h stehen. Anschließend wird das Lösungsmittel i.Vak. entfernt und der Rückstand in Chloroform suspendiert. Man säuert mit konz. H₂SO₄ an und versetzt mit 5 ml Methanol. Das Reaktionsgemisch wird 2h am Wasserabscheider unter Rückfluß gekocht. Nach Entfernen des Lösungsmittels destilliert man 43 bei 0,1 Torr und 55°.

Farbloses Öl, Ausbeute 60%

Den Spektren nach identisch mit dem aus Bier isolierten Produkt.

2.6.2. Methanolyse von Schokolade

10 g fein zerriebene Schokolade werden in 100 ml Methanol suspendiert und mit p-Toluolsulfonsäure 4h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die Weiterverarbeitung erfolgt analog 2.6.1. Ergebnisse im theoret. Teil.

3. 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (7)

3.1. Man verfährt wie bei der Isolierung von 8 (siehe 2.2.).

Die Substanz mit dem GC-Peak RT=48 min. wird in einer luftgekühlten Glaskapillare gesammelt.

Farblose Kristalle, Schmp. 171° , Ausb. 0,15% (bez. auf Glucose)

MS: m/e 142(60, M^{+}), 113(35), 96(20), 85(100), 71(40),

68(70), 67(40)

IR(KBr): 3400, 1695, 1630, 1510, 1360, 1130, 1105, 720 cm^{-1}

NMR(CD_3OD): τ 7,72(s, 3H), τ 3,10(s, 1H)

Ber. für $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$ (142,11): C 50,70 H 4,26

Gef.:

C 50,65 H 4,29

3.2. Darstellung von 3-Hydroxy-6-methyl-(2H,5H,6H)-pyran-2,5-dion(46) und 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (7)

In eine Suspension von 1,5 g Natriumhydrid in 30 ml Cyclohexan gibt man 3,1 g Oxalsäurediäthylester (45). Unter Rühren bei Raumtemperatur wird 1,7 g 3-Hydroxy-butan-2-on (44) in kleinen Anteilen zugefügt. Nach 1h säuert man mit verd. HCl an und schüttelt mit Essigsäureäthylester aus. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum wird 46 bei 0,1 Torr und 65° sublimiert. Anschließend sublimiert 7 bei 0,1 Torr und 90° .

3-Hydroxy-6-methyl-(2H,5H,6H)-pyran-2,5-dion (46):

Farblose Kristalle, Schmp. 115° , Ausb. 34%

MS: m/e 142(100, M^{+}), 125(28), 114(8), 98(41), 97(87), 71(65),

70(72), 69(78), 55(40), 53(83), 43(97)

IR(KBr): 3140, 1725, 1715, 1635, 1385, 1330, 1250, 1195,

950, 880, 795 cm^{-1}

NMR(CDCl₃): τ 8,31(d, J=8Hz, 3H), τ 4,90(q, J=8Hz, 1H), τ 3,79(s, 1H)

Ber. für C₆H₆O₄ (142,11): C 50,70 H 4,26

Gef.: C 50,59 H 4,32

Umwandlung von 5-Hydroxy-6-methyl-(2H,5H,6H)-pyran-2,5-dion (46)

in 3,5-Dihydroxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (7)

In 10 ml 3n HCl gibt man 1,0 g 46 und kocht 30 min unter Rückfluß. Nach Erkalten wird mit Essigsäureäthylester ausgeschüttelt. Man dampft das Lösungsmittel i.Vak. ein und destilliert 7 bei 0,1 Torr und 90°.

Farblose Kristalle, Schmp. 171°, Ausb. 60%. Den Spektren nach identisch mit dem aus Glucose erhaltenen Produkt.

3.3. Umsetzungen mit 7

3.3.1. 3,5-Dimethoxy-6-methyl-2H-pyran-2-on (50)

Darstellung aus 7 analog der Synthese von 23 (siehe 2.3.2.7.).

Hochvakuumdestillation bei 0,1 Torr und 50°.

Farbloses Öl, Ausb. 80%

MS: m/e 170(100, M⁺), 155(65), 141(52), 127(43), 99(37), 85(17)
71(48), 68(23), 43(19)

IR(Film a. NaCl): 2960, 1705, 1640, 1505, 1370, 1105 cm⁻¹

NMR(CDCl₃): τ 7,76(s, 3H), τ 6,29(s, 3H), τ 6,12(s, 3H), τ 2,98(s, 1H)

3.3.2. Umsetzung von 7 mit Methylamin (sowie Methylammonium-acetat)

Äquimolekulare Mengen von 7 und Methylamin (bzw. Methylammonium-acetat) erhitzt man 2h unter Rückfluß in wässriger Lösung zum Sieden. Nach dem Abkühlen wird das schwarzbraune Reaktionsgemisch 3h im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert.

Die organische Phase wird i.Vak. eingeengt und dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel in verschiedenen Fließmittel untersucht. Man erhält überwiegend die Ausgangssubstanz 7.

3.3.3. Umsetzung von 7 mit Diäthylamin bzw. Diäthylammoniumacetat

3.3.3.1. Diese Umsetzungen erfolgen analog der Reaktion 3.3.2. Die Ausgangssubstanz 7 bleibt unverändert.

3.3.3.2. Äquimolare Mengen von 7 und Diäthylammoniumacetat werden in wässriger Lösung im Bombenrohr 2h auf 130° erhitzt. Nach dem Abkühlen schüttelt man das Reaktionsgemisch mehrmals mit Methylenchlorid aus. Die vereinigten organischen Extrakte werden nach Entfernung des Lösungsmittels i.Vak. bei 0,1 Torr und 75° destilliert. Das übergehende Öl ist den Spektren nach identisch mit 51.

3.3.4. Umsetzung von 7 mit Furfural

100 mg 7 werden in 10 ml Äthanol gelöst und mit 30 mg Furfural und 3 Tropfen Piperidin unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen dampft man das Lösungsmittel i.Vak. ein und untersucht dünnschichtchromatographisch auf Kieselgel in verschiedenen Fließmitteln. Die Ausgangssubstanz 7 bleibt unverändert.

3.4. Nachweis von 7 in Bräunungsgemischen

3.4.1. Bräunungsreaktionen in wässriger Lösung

Zucker-, Aminkomponente (siehe theoret. Teil, Tab.2) und Weinsäure (bei Aminosäuren und Casein weglassen) im Molverhältnis 2:2:1 werden in Wasser gelöst und 2h unter Rückfluß zum Sieden

erhitzt. Nach dem Abkühlen extrahiert man die braune Lösung im Perforator mit Methylenchlorid. Die über Na_2SO_4 getrocknete organische Phase wird i.Vak. eingedampft und der Rückstand bei 0,1 Torr und 150° destilliert. Die GC-Untersuchung des Destillats erfolgt durch Vergleich mit der Reinsubstanz 7. Gaschromatographie: siehe 2.2.

Anschließend analysiert man im GC-MS-System.

Ergebnisse im theoret. Teil (Tabelle 2).

3.4.2. Bräunungsreaktionen in Abwesenheit von Wasser

Eine Mischung von 1 Mol Zucker-, 1 Mol Aminosäure und 0,5 Mol Weinsäure (bei Aminosäuren und Casein weglassen) wird im Ölbad erhitzt, bis die Reaktionsmischung eine Temperatur von 130° angenommen hat. Man beläßt auf dieser Temperatur 30 min. Die erkaltete Schmelze wird in Wasser gelöst und 12h im Perforator mit Methylenchlorid extrahiert. Die braune organische Phase trocknet man über Na_2SO_4 , dampft i.Vak. ein und destilliert bei 0,1 Torr bis 150° .

Untersuchung des Destillats wie bei 3.4.1.

3.4.3. Umsetzung von Glucose mit N-Methyl-acetamid

3.4.3.1. Umsetzung in wässr. Lösung

50 g Glucose und 18 g N-Methyl-acetamid werden in 200 ml Wasser 4h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die farblose Lösung extrahiert man nach Abkühlen 12h mit Methylenchlorid im Perforator. Die über Na_2SO_4 getrocknete organische Phase wird i.Vak. eingeengt und bei 0,1 Torr und 150° destilliert. Das Destillat untersucht man anschließend im GC-MS-System.

Gaschromatographie:

Säule: 5% QF 1 auf Chromosorb W-AW-DMCS 60-80 mesh,

2,5 m Länge, 1/8" $\emptyset$

Säulentemp.: 100-250°, 4°/min

Detektortemp.: 250°, Injektortemp.: 280°

Gasdurchfluß: 30 ml/min

Ergebnis im theoret. Teil

3.4.3.2. Umsetzung in Abwesenheit von Wasser

50 g Glucose und 18 g N-Methylacetamid werden im Ölbad auf 150° erhitzt. Man beläßt bei dieser Temperatur 1h. Die erkaltete Schmelze wird in Wasser aufgenommen und 12h mit Methylenchlorid extrahiert. Der Extrakt wird wie in 3.4.3.1. untersucht.

Ergebnisse im theoret. Teil

4. Umsetzungen reduzierender Zucker mit Methylammoniumtartrat

4.1. Bräunungsreaktionen von Glykolaldehyd mit Methylammoniumtartrat

12 g Glykolaldehyd werden mit 9,2 g Methylamin (35 proz. wässr. Lösung) und 7,5 g Weinsäure in 50 ml Wasser unter Rückfluß 10 min. zum Sieden erhitzt. Nach dem Erkalten extrahiert man 12h im Perforator mit CH_2Cl_2 . Die braune organische Phase wird über Na_2SO_4 getrocknet und dann i.Vak. vom Lösungsmittel befreit. Den Rückstand destilliert man bei 0,1 Torr bis 170°. Das Destillat wird anschließend im GC-MS-System untersucht.

Gaschromatographie: siehe 3.4.3.1.

Das Gaschromatogramm sowie die Massenspektren der mit Strukturen belegten Verbindungen sind im theoret. Teil abgebildet (Abb.12, Tab.3).

4.2. Bräunungsreaktionen von Glycerinaldehyd mit Methylammoniumtartrat

4.2.1. 18 g Glycerinaldehyd werden mit 9,2 g Methylaminlösung (35 proz.) und 7,5 g Weinsäure in 70 ml Wasser 15 min unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Nach dem Abkühlen extrahiert man 10h im Perforator mit Methylenchlorid. Die über Na_2SO_4 getrocknete, organische Phase wird i.Vak. eingedampft und dann auf Kieselgel PSC-Fertigplatten im Fließmittel Benzol/Äthylacetat (1+1) chromatographiert. Die unter UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$) fluoreszenzlöschenden Zonen um $\text{rf } 0,75\text{-}0,85$ (=A1), $\text{rf } 0,70$ (=A2), $\text{rf } 0,45\text{-}0,60$ (=A3), $\text{rf } 0,25\text{-}0,45$ (=A4) und $\text{rf } 0,0$ (=A5) trennt man ab, eluiert mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (1+1) und verdampft das Lösungsmittel i.Vak..

4.2.2. Untersuchung der Fraktionen A1, A3 und A4

Die Fraktionen A1, A3 und A4 werden im Hochvakuum (0,1 Torr) bis 160° destilliert und das ölige Destillat im GC-MS-System untersucht.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

Die Gaschromatogramme der Fraktionen A1, A3 und A4 sowie die Massenspektren der identifizierten Verbindungen sind im theoret. Teil abgebildet (Abb.13,14 und 15, Tab.3).

4.2.3. Fraktion A2: 1,2-Dimethyl-5-(1,2-dioxoprop-1-yl)-
3-hydroxy-pyrrol (145)

Aus der scharf begrenzten, intensiv gelben Zone mit dem
Rf-Wert 0,70 wird 145 in Form rotoranger Kristalle isoliert.
Identifizierung durch Spektrenvergleich

4.2.4. Untersuchung der Fraktion A5

Fraktion A5 wird auf Kieselgel PSC-Fertigplatten im Fließmittel
n-Butanol/Methanol/Wasser (4+2+1) weiter aufgetrennt. Drei
unter UV-Licht ($\lambda = 254$ nm) fluoreszenzlöschende Zonen trennt
man ab, eluiert mit heißem Methanol und entfernt das Lösungs-
mittel i.Vak. Die Rückstände werden durch Hochvakuumsublimation
(0,1 Torr, 140-190°) gereinigt.

4.2.4.1. 1,2-Dimethyl-3-hydroxy-4-pyridon (161)

Rf 0,5 , farblose Kristalle

Identifizierung durch Spektrenvergleich

4.2.4.2. 3,5-Dihydroxy-1,2-dimethyl-4-pyridon (162)

Rf 0,3 , farblose Kristalle, Schmp. 270-275° (Zers.)

MS: m/e 155(100), 140(26), 127(60), 126(45), 112(18), 98(12),
85(15), 71(31), 70(20), 57(31)

IR(KBr): 3050, 1650, 1550, 1510, 1330, 1010 cm^{-1}

NMR(d_7 -DMF): τ 7,60(s,3H), τ 6,18(s,3H), τ 2,31(s,1H)

UV(CH_3OH): $\lambda_{\text{max}} = 220$ nm ($\log \epsilon = 4,41$), 293 nm ($\log \epsilon = 4,02$)

Ber. für $\text{C}_6\text{H}_9\text{NO}_3$ (155,15): C 54,19 H 5,85 N 9,03

Gef.: C 54,31 H 5,72 N 8,98

1.2.4.3. 3,5-Dihydroxy-1,2-dimethyl-6-(2-oxoprop-1-yl)-4-pyridon (165)

Rf 0,1 , farblose Kristalle, Schmp. 300° (Zers.)

MS: m/e 211(28, M⁺), 168(100), 155(21), 140(8), 126(19), 113(8), 112(5), 85(5), 71(9), 58(11)

IR(KBr): 3070, 1710, 1630, 1545, 1510, 1355, 1140 cm⁻¹

UV(CH₃OH): λ_{max} = 222 nm (log ε = 4,38), 289 nm (log ε = 3,95)

4.3. Bräunungsreaktionen von Erythrose mit Methylammoniumtartrat

10,0 g L-Erythrose werden mit 8,5 g Methylamin (35 proz. wässr. Lösung) und 6,6 g Weinsäure 30 min unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die erkaltete Reaktionsmischung extrahiert man 10 h im Perforator mit Methylenchlorid. Der organische Extrakt wird bei 0,1 Torr bis 200° destilliert. Das Destillat chromatographiert man auf Kieselgel PSC-Fertigplatten im Fließmittel Methylenchlorid/Acetonitril (7+3). Die unter UV-Licht (λ = 254 nm) durch Fluoreszenzlöschung sichtbare Zonen um rf 0,80-0,90 (=B1), rf 0,65-0,75 (=B2), rf 0,50-0,60 (=B3) und rf 0,35-0,50 (=B4) werden abgetrennt und die durch Elution vom Kieselgel (CH₂Cl₂/CH₃OH 1+1) erhaltene Öle im GC-MS-System analysiert.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

Die Gaschromatogramme sowie die identifizierten Verbindungen mit ihren Massenspektren sind im theoret. Teil abgebildet (Abb.17, 18, 19 und 20, Tab.3).

4.4. Bräunungsreaktionen von Glucose mit Methylammoniumtartrat

Bräunungsansatz und Extraktion wie in 2.4.

4.4.1. Untersuchung des Methylenchlorid-Extrakts

Der CH_2Cl_2 -Extrakt wird auf Kieselgel PSC-Fertigplatten im Fließmittel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{CN}$ (7+3) chromatographisch aufgetrennt. Die Platten teilt man nach der Entwicklung in sieben gleich breite Zonen ein. Die Zonen werden abgetrennt und mit $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ (1+1) eluiert. Die nach Entfernen des Lösungsmittels i.Vak. gewonnenen Fraktionen werden im Hochvakuum (0,1 Torr) bis 180° destilliert. Anschließend untersucht man im GC-MS-System.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

Die Hauptkomponenten werden mittels GC-Splitting in Glaskapillaren gesammelt.

4.4.1.1. Di-furfural-2-methyläther (175)

Zone rf 0,75-0,85 , RT 59 min, hellgelbe Kristalle, Schmp. 110°
MS: m/e 234(29, M^+), 206(92), 138(24), 126(67), 124(41), 110(94)
109(100), 95(63), 82(57), 81(52), 54(78), 41(49)
IR(KBr): 3120, 1675, 1520, 1410, 1360, 1280, 1200, 1050 cm^{-1}
NMR(CDCl_3): τ 5,29(s, 4H), τ 3,22(d, J=3Hz, 2H), τ 2,60(d, J=3Hz, 2H),
 τ 0,75(s, 2H)

4.4.1.2. 5-Acetyl-1,2-dimethyl-3-hydroxy-pyrrol (176)

Zone rf 0,45-0,60 , RT 41 min, farblose Kristalle
MS: m/e 153(78, M^+), 138(100), 110(39), 82(17), 69(23), 56(25),
55(12), 43(33)

IR(KBr): 3200, 1620, 1575, 1440, 1370, 930 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 7,83(s,3H), τ 7,65(s,3H), τ 6,14(s,3H), τ 3,48(s,1H)

4.4.1.3. 2-(N-Acetyl-methylamino)-1-methyl-pyrrol (111)

Zone rf 0,75-0,85 , RT 37 min, farbloses Öl

Molekulargewicht: 152,0947 (bestimmt mit hochauflösendem MS)

MS: m/e 152(100, M^+), 138(11), 110(68), 109(55), 95(43), 94(13),
82(14), 81(36), 68(23), 56(19), 53(17)

IR(Film a.NaCl): 2930, 1635, 1590, 1565, 1510, 1390, 1245 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 8,00(s,3H), τ 6,78(s,3H), τ 6,33(s,3H),
 τ 4,00(t, J=2Hz, 1H), τ 3,45(d, J=2Hz, 2H)

4.4.1.4. Bi-2,3-dihydro-5-methyl-2-methylamino-furan-3-on-4-yl (180)

Zone rf 0,45-0,60 , RT 67 min, farblose Kristalle

MS: m/e 126(100), 98(66), 97(37), 67(38), 66(48), 55(12), 43(87)
m/e 252(M^+) an Hand des metastabilen Peak m/e 63,3 berechnet

IR(KBr): 3300, 1690, 1590, 1385, 1350, 1300, 1080, 960 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 7,83(s,6H), τ 6,97(d, J=4,5Hz, 6H), τ 3,36(d, J=13Hz, 2H)
 τ 5,3(m, 2H)

4.4.1.5. 1,2,3,5-Tetramethyl-pyrrolo [2,3-b]-1,4-oxazin(182)oder
2,3,4,5-Tetramethyl-pyrrolo [3,2-b]-1,4-oxazin (183)

Zone rf 0,85-0,95 , RT 25 min, farbloses Öl

MS: m/e 178(100, M^+), 163(69), 149(18), 109(32), 80(41), 53(22)

IR(Film a.NaCl): 2970, 1650, 1555, 1520, 1480, 1110, 895 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 8,65(s,3H), τ 8,31(s,3H), τ 7,08(s,3H), τ 6,23(s,3H),
 τ 4,50(d, J=2Hz, 1H), τ 3,07(d, J=2Hz, 1H)

4.4.2. Methylierung des Methylenchlorid-Extrakts

4.4.2.1.

Der nach Vorschrift 2.4. erhaltene Methylenchlorid-Extrakt (10g) wird unter Rühren in 50 ml Acetonitril suspendiert und mit 3,0g Thallium(I)-äthylat versetzt. Man gibt 4,5 g Methyljodid zu und rührt bei Raumtemperatur bis zum Auftreten einer tiefgelben Färbung. Nach Filtration des Thallium(I)-jodids und Abdampfen des Lösungsmittels i.Vak. wird auf Kieselgel PSC-Fertigplatten chromatographiert. Auf den im Fließmittel Benzol/Äthylacetat(5+1) entwickelten Platten sind im UV-Licht ($\lambda = 254 \text{ nm}$) drei fluoreszenzlöschende Zonen sichtbar: rf 0,80-0,90 (=C1), rf 0,65-0,75 (=C2), rf 0,45-0,60 (=C3). Nach Abtrennen vom Kieselgel erhält man drei Fraktionen, die im GC-MS-System untersucht werden. Gaschromatographie: siehe 3.4.3.1.

Die Gaschromatogramme und die Massenspektren der identifizierten Verbindungen sind im theoret. Teil abgebildet (Abb.26, 27 und 28, Tab. 3).

4.4.2.2. 5-Formyl-3-methoxy-1,2,4-trimethyl-pyrrol (133)

Aus Fraktion C3 wird die Substanz mit GC-Peak RT 39 min durch GC-Splitting gesammelt. Farblose Kristalle

MS: m/e 167(71, M^+), 166(47), 152(100), 138(42), 124(45), 110(27)
108(28), 94(25), 82(16), 69(12), 55(15)

IR(KBr): 2940, 1650, 1560, 1465, 1400, 1360, 1230, 1010 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 7,84(s,3H), τ 7,73(s,3H), τ 6,31(s,3H),
 τ 6,17(s,3H), τ 0,80(s,1H)

4.4.3. LiAlH₄-Reduktion schwerflüchtiger Anteile des Methylenchlorid-Extrakts

Den nach Vorschrift 2.4. gewonnenen Methylenchlorid-Extrakt chromatographiert man auf einer kurzen Kieselgelsäule (10 cm Länge, 1 cm Ø). Die mit Methylenchlorid/Acetonitril (7+3) nicht chromatographierbaren Anteile werden mit Methanol von der Säule eluiert. Das Eluat befreit man i.Vak. vom Lösungsmittel und vermischt es mit 10 g Al₂O₃ (Akt.I). Der auf Al₂O₃ aufgezugene Extrakt wird portionsweise in eine Lösung von 3 g LiAlH₄ in 50 ml wasserfreien Äther gegeben und 1h bei Raumtemperatur gerührt. Der größte Teil des Lösungsmittels wird i.Vak. entfernt und der Rückstand bei 0,1 Torr im Sandbad bis 160° destilliert. Die übergelassenen Reaktionsprodukte fängt man in einer mit flüssiger Luft gekühlten Falle auf und untersucht im GC-MS-System.

Gaschromatographie:

Säule: 5% Apiezon M auf Chromosorb W 60-80 mesh, 2,5 m Länge,
1/8" Ø

Säulentemp.: 50-300°, 4°/min

Detektortemp.: 300°, Injektortemp.: 280°

Gasdurchfluß: 30 ml/min

Das Gaschromatogramm sowie die Massenspektren sind im theoret. Teil zu finden (Abb.30, Tab.4).

5. Zurückdrängen der Bräunung

5.2. Abfangen reaktiver Zwischenstufen mit Benzaldehyd

50 g Glucose werden mit 23 g Methylamin (35 proz. wässr. Lösung), 18,5 g Weinsäure und 10 g Benzaldehyd 2h unter Rückfluß zum Sieden erhitzt. Die stark gebräunte Lösung, die von schwarzen Rückständen durch Filtration befreit wird, extrahiert man mit Methylenchlorid 12h im Perforator. Die über Na_2SO_4 getrocknete organische Phase wird nach Einengen am Rotavapor im Hochvakuum (0,1 Torr) bis 180° destilliert. Das Destillat trennt man gaschromatographisch auf und sammelt die Hauptkomponenten in luftgekühlten Glaskapillaren.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

4-Phenyl-but-3-en-2-on (217)

Farbloses Öl, RT 38 min

MS: m/e 146(100, M^+), 131(56), 103(29), 77(93), 51(22), 43(47)

IR(Film a.NaCl): 1680, 1600, 1510, 1485, 1420, 930, 780 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 7,61(s, 3H), τ 3,25(d, J=16Hz, 1H),

τ 2,39(d, J=16Hz, 1H), τ 2,3-2,6(m, 5H)

1-Hydroxy-4-phenyl-but-3-en-2-on (218)

Farblose Kristalle, RT 44 min

MS: m/e 162(100, M^+), 145(28), 131(66), 103(35), 77(71), 55(26)

IR(KBr): 3250, 1675, 1620, 1520, 1490, 1415, 1200, 785 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 5,52(s, 2H), τ 3,32(d, J=16Hz, 1H),

τ 2,42(d, J=16Hz, 1H), τ 2,3-2,6(m, 5H)

2,5-Dihydroxy-1-phenyl-hexa-1,4-dien-3-on (219)

Farblose Kristalle, RT 63 min

MS: m/e 204(100, M^+), 189(43), 147(56), 119(27), 77(61), 55(28)

IR(KBr): 3050, 1655, 1610, 1515, 1490, 1220, 905, 775 cm^{-1}

5.3. Abfangen reaktiver Zwischenstufen durch Extraktion während der Umsetzung

5.3.1. Darstellung des Aminosuckers

50 g Glucose werden mit 23 g Methylamin (35 proz. wässr. Lösung) in 150 ml Methanol 15 min unter Rückfluß zum Sieden erhitzt.

Nach dem Erkalten gibt man in diese Lösung unter kräftigem Rühren 100 g Al_2O_3 (Akt.I). Anschließend wird das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt.

5.3.2. Umsetzung im Heißeextraktor

Der auf Al_2O_3 adsorbierte Aminosucker wird in einer Filterhülse im Heißeextraktor mit Äthylacetat extrahiert. In Dreiminuten-Intervallen saugt man den im Kolben sich ansammelnden Extrakt ab und ersetzt durch frisches Extraktionsmittel. Nach 30 min Extraktion wird der Versuch abgebrochen und die vereinigten Lösungen i.Vak. eingedampft. Man erhält farblose Kristalle, die in N_2 -Atmosphäre aufbewahrt werden.

5.3.3. Acetylierung

500 mg der nach 5.3.2. erhaltenen Substanz werden in 10 ml trockenem Pyridin gelöst und mit 3 ml Acetanhydrid 10h bei Raumtemperatur gerührt. Das Reaktionsgemisch versetzt man mit 30 ml Eiswasser und schüttelt mehrmals mit Methylenchlorid aus. Der organische Extrakt wird nach Entfernung des Lösungsmittels bei 0,1 Torr bis 130° destilliert. Das Destillat wird gas-chromatographisch aufgetrennt und die drei Hauptkomponenten in

luftgekühlten Glaskapillaren gesammelt.

Gaschromatographie: siehe 2.2.

5.3.3.1. Tetraacetyl- α -3-desoxy-hexopyranosulos-2-en (220)

Farblose Kristalle, RT 39 min

MS: m/e 330(7, M^+), 270(11), 242(14), 215(20), 200(31), 169(29),
157(48), 140(34), 115(72), 98(51), 73(49), 43(100)

IR(KBr): 2940, 1740, 1420, 1360, 1210, 1070, 1030 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 7,87(s, 3H), τ 7,84(s, 3H), τ 7,82(s, 3H),
 τ 5,8(m, 2H), τ 4,8(m, 3H), τ 4,2(m, 1H)

5.3.3.2. Tetraacetyl- β -3-desoxy-hexopyranosulos-2-en (221)

Farblose Kristalle, RT 40 min

Identische Spektraldaten wie 220

5.3.3.3. Triacetyl-Verbindung (Struktur noch nicht geklärt)

Farbloses Öl, RT 28 min

MS: m/e 270(11, M^+), 228(12), 186(56), 144(41), 126(74), 98(27),
84(44), 55(62), 43(100)

IR(Film a. NaCl): 2950, 1740, 1470, 1220, 1130 cm^{-1}

NMR(CDCl_3): τ 8,00(s, 3H), τ 7,87(s, 3H), τ 7,79(s, 3H), τ 5,6(m, 3H),
 τ 5,4(m, 2H)

Lebenslauf

Helmut Pehr geboren am 26.3.1949 in Deggendorf als
Sohn des Kaufmanns Alfons Pehr und seiner
Ehefrau Katharina, geb. Peringer

Schulen 1955-1959 Volksschule in Regen
1959-1968 Math.-naturwissenschaftliches
Gymnasium in Zwiesel

Reifeprüfung Juli 1968

Wehrdienst 1968-1970 Bundesgrenzschutz

Berufsausbildung SS 1970 - WS 1973/74 Studium der Lebens-
mittelchemie an der Universität München

Vorprüfung April 1972

Hauptprüfung Teil A April 1974

SS 1975 - WS 1976/77 Studium der Pharmazie
an der Universität München

1. Staatsexamen September 1975

2. Staatsexamen April 1977

Seit September 1974 arbeite ich unter Anleitung von Herrn Prof.
Dr. Th. Severin am Institut für Pharmazie und Lebensmittel-
chemie der Universität München an der vorliegenden Dissertation.

